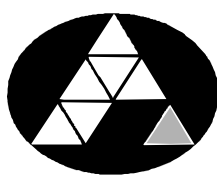


POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Jaana Kekkonen
Kaisa Tonteri

ELÄINTEN PERIFEERISTEN VERISOLUJEN TUTKIMINEN
- Ohjekansio eläinlääkäriopiskelijoille

Opinnäytetyö
Lokakuu 2012



POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

OPINNÄYTETYÖ
Lokakuu 2012
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tikkarinne 9
80200 JOENSUU
p. (013) 260 600

Tekijät
Jaana Kekkonen, Kaisa Tonteri

Nimeke
Eläinten perifeeristen verisolujen tutkiminen – Ohjekansio eläinlääkäriopiskelijoille

Toimeksiantaja: Helsingin yliopisto, Eläinlääketieteellinen tiedekunta, Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto

Tiivistelmä

Eläinlääkäriasemien tarjoamien palveluiden käyttö on lisääntynyt ihmisten halutessa varmistaa eläinten yleistä hyvinvointia. Eläinlääketieteessä käytetään lähes samoja laboratoriotutkimuksia kuin ihmisen hoidon suunnittelussa, tukena ja seurannassa. Laboratoriotutkimukset parantavat sairauksien diagnosointia ja lisäävät hoidon tehokkuutta. Tutkimusten on siis oltava laadukkaita ja tulosten luotettavia.

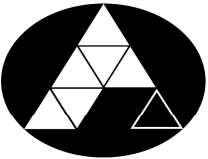
Eläinten perifeerisen veren sivelyvalmisteen mikroskooppinen tarkastelu on yksi hematologian perustutkimuksista eläinlääkäriasemilla. Sivelyvalmisteen tutkiminen auttaa eläinlääkäriä diagnoosin tekemisessä ja sen avulla saadaan selvitettyä nopeasti verisolujen morfologisia poikkeavuuksia. Laadukkaan sivelyvalmisteen tekeminen ja värjääminen on edellytys luotettavalle verisolujen mikroskooppiselle tarkastelulle.

Tämän toiminnallisen opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Helsingin yliopisto, Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto, fysiologian oppiaine. Opinnäytetyön tuotoksena tehdyn ohjekansion tarkoituksena on olla tukena eläinlääkäriopiskelijoille eläinten verisolujen tunnistamisessa. Ohjekansioon kuvattiin viiden kotieläimen: hevosen, kanan, kissan, koiran ja nautan normaalit kypsät verisolut. Ohjekansiossa kerrotaan solujen morfologiasta ja erityispiirteistä. Ohjekansio on koottu opinnäytetyön tekstin teoriaosuudesta ja kuvatuista solukuvista.

Kieli
suomi

Sivuja 44
Liitteet 4
Liitesivumäärä 31

Asiasanat
verisolut, hevonen, kana, kissa, koira, nauta, ohjekansio

 <p>NORTH KARELIA UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES</p>	<p>THESIS October 2012 Degree Programme in Biomedical Sciences</p> <p>Tikkarinne 9 FIN 80600 JOENSUU FINLAND Tel. +358-13-260 600</p>
<p>Authors Jaana Kekkonen, Kaisa Tonteri</p>	
<p>Title The Study of Peripheral Blood Cells in Animals – An Instruction Manual for Veterinary Students Commissioned by University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Biosciences</p>	
<p>Abstract</p> <p>The use of services offered by veterinary clinics has increased since people want to secure the well-being of animals. In veterinary medicine, the same types of laboratory tests are used as are used in the planning, support and follow-up of care in human medicine. Laboratory tests enhance the diagnosing of ailments and, thus, promote the efficacy of treatments. The tests need to be of a good quality and the results accurate.</p> <p>The microscopic study of peripheral blood smear preparations is one of the basic haematological tests performed in veterinary clinics. Blood smear evaluation assists veterinarians in making the diagnosis and it can be used to find morphological deviations quickly. Preparation and dyeing of a good quality smear is a prerequisite for a reliable microscopic study of blood cells.</p> <p>This practise-based thesis was commissioned by the University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine. As a result of this thesis, an instruction manual was created to support veterinary students to recognise blood cells. The instruction manual is illustrated with photographs of normal mature blood cells in equine, poultry, feline, canine and bovine. The instruction manual describes blood cell morphology and distinctive characteristics in blood cells.</p>	
<p>Language Finnish</p>	<p>Pages 44 Appendices 4 Pages of Appendices 31</p>
<p>Keywords</p> <p>blood cells, equine, poultry, feline, canine, bovine, guide book</p>	

Sisältö

Tiivistelmä

Abstract

1	Johdanto	5
2	Eläinlääkärin koulutus Suomessa	6
3	Verenkuvatutkimus eläimiltä	7
3.1	Näytteenotto	8
3.2	Sivelyvalmisteen teko	9
3.3	Sivelyvalmisteen virhelähteet.....	10
3.4	Sivelyvalmisteen värjääminen.....	11
3.5	Sivelyvalmisteen mikroskopointi	12
3.6	Sivelyvalmisteen arviointi.....	13
4	Verisolujen tehtävät	15
5	Lajiominaiset normaalit kypsät verisolut.....	16
5.1	Hevonen	17
5.2	Kana	19
5.3	Kissa.....	22
5.4	Koira	24
5.5	Nauta	26
5.6	Viitearvot.....	29
6	Ohjekansio oppimisen tueksi	29
7	Opinnäytetyön tarkoitus	30
8	Opinnäytetyön menetelmällinen valinta	31
9	Opinnäytetyöprosessi	32
9.1	Alkukartoitus	33
9.2	Toimintaympäristö ja kohderyhmä	34
9.3	Ohjekansion kokoaminen.....	34
9.4	Ohjekansion rakenne	36
10	Pohdinta.....	37
10.1	Tutkimuksen luotettavuus	38
10.2	Tutkimuksen eettisyys	40
10.3	Jatkotutkimusaiheet	41
	Lähteet.....	42

Liitteet

Liite 1	Toimeksiantosopimus
Liite 2	Eläinten puna- ja valkosolujen viitearvot
Liite 3	Käsitteitä ja määritelmiä
Liite 4	Ohjekansio

1 Johdanto

Eläinten rooli on tänä päivänä meille ihmisille enemminkin perheenjäsen kuin lemmikki. Eläinten hoitomenetelmät ovat kehittyneet viime vuosien aikana huomattavasti laboratoriolääketieteen puolella. Eläinlääketieteessä on käytössä lähes samat laboratoriotutkimukset kuin ihmisten hoidon suunnittelussa, tukena ja seurannassa. Eläinlääkäriasemien tarjoamien palveluiden käyttö on lisääntynyt. Eläinten kriittisissä sairastapauksissa ja lemmikin yleisen hyvinvoinnin lisäämiseksi omistajat käyttävät tarjolla olevia palveluja. Laboratoriotutkimukset parantavat sairauksien diagnosointia ja edistävät hoidon tehokkuutta. Siksi laboratoriotutkimuksien on oltava laadukkaita ja tulosten luotettavia. (Lane, Cooper & Turner 2007, 317.)

Yleisimpiä ja informatiivisimpia laboratoriotutkimuksia on verenkuvatutkimus. Verenkuvan tulosten tulkitseminen oikein auttaa valitsemaan tarpeelliset jatkotutkimukset ja välttämään tarpeettomat tutkimukset. (Niemelä & Pulkki 2010, 249.) Jos verenkuva-analysaattori antaa näytteistä hälytyksiä eli kaikkien solujen tunnistus ei onnistu analysaattorin avulla, näistä näytteistä valmistetaan sivelyvalmiste (Ruutu, Rajamäki, Lassila & Porkka 2007, 100). Sivelyvalmisteesta tehdään valkosolujen erittelylaskenta sekä punasolujen, trombosyyttien ja valkosolujen morfologian ja määrän arviointi (Koski & Sinisalo 2010, 2857–2859).

Toiminnallisen opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä Helsingin yliopiston Eläinlääketieteellisten biotieteiden osaston eläinlääkäriopiskelijoille ohjekansio (liite 4), joka käsittelee eläinten sivelyvalmisteen tekoa, värjäämistä ja mikroskopointia. Ohjekansio sisältää myös viiden yleisen kotieläimen: hevosen, kanan, kissan, koiran ja naudan normaalit kypsät valkosolut kuvina, sekä selkeät pääpiirteet solujen morfologiasta ja eroavaisuuksista. Ohjekansion tarkoituksena on olla tukena opiskelijoille eläinten verisolujen tunnistamisessa. Opinnäytetyön aihe ja toimeksianto saatiin Helsingin yliopiston Eläinlääketieteellisen tiedekunnan Eläinlääketieteellisten biotieteiden osastolta (EBIO) kesällä 2011. Opinnäytetyössä käytettyjä käsitteitä ja määritelmiä on esitetty liitteessä 3.

2 Eläinlääkärin koulutus Suomessa

Eläinlääketieteellinen tiedekunta on Suomessa ainoa paikka, jossa annetaan eläinlääkärikoulutusta. Tiedekunta vastaa eläinlääkäreille annettavasta peruskoulutuksesta ja eläinlääketieteellisestä tutkimuksesta. Tiedekunnan tehtävänä on huolehtia alan tieteellisestä jatko- ja täydennyskoulutuksesta sekä kehittää käytännön eläinlääkintää ja tähän liittyvää palvelutoimintaa. Eläinlääketieteellisen tiedekunnan tavoitteena on ylläpitää ja kehittää koko ajan korkeatasoista eläinlääketieteen opetusta ja tutkimusta kansainvälisellä tasolla. (Helsingin yliopisto 2006a.)

Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto edustaa perustieteitä, rakentaen pohjan eläinlääketieteelle. EBIO:n osasto koostuu seuraavista ryhmistä: anatomia, biokemia, fysiologia, mikrobiologia ja solu- ja molekyylibiologia sekä epidemiologia, molekyyli-genetiikka ja patologia ja parasitologia. Suurelta osin eläinlääketieteellisten biotieteiden opetus sijoittuu eläinlääkäriin opintojen alkuvaiheeseen. Osana biotieteiden opetusta opetellaan tunnistamaan eri eläinlajien perifeerisiä verisoluja. Opetuksella luodaan perustaa kliinisille opinnoille. (Helsingin yliopisto 2006b.)

Eläinlääkäriin tutkinto on kaksioportainen ja koostuu 180 opintopisteen kandidaattitutkinnosta ja 180 opintopisteen lisensiaattitutkinnosta. Perustutkinto eläinlääkäriin ammattiin on eläinlääketieteen lisensiaatin tutkinto, ja sen laajuus on 360 opintopistettä. Tutkinnon suorittamiseen menee noin kuusi vuotta. Perustutkinto-opiskelijoita on noin 400, joista vuosittain valmistuu noin 50 eläinlääketieteen lisensiaattia. (Helsingin yliopisto 2006a.)

3 Verenkuvatutkimus eläimiltä

Yleisimpiä ja informatiivisimpia laboratoriotutkimuksia on verenkuvatutkimus. Verenkuvan tulosten tulkitseminen oikein auttaa valitsemaan tarpeelliset jatko-tutkimukset ja välttämään tarpeettomat tutkimukset. (Niemelä & Pulkki 2010, 249.) Verenkuvatutkimuksen tarkoituksena on auttaa eläinlääkärinä diagnoosin tekemisessä, sen avulla saadaan selvitettyä nopeasti verisolujen morfologisia poikkeavuuksia. Etenkin sisätautitutkimuksissa, tehohoidon seurannassa ja vaativiin leikkauksiin valmistautuessa on välttämätöntä ottaa erilaisia näytteitä ja analysoida ne. (Sankari 2012.) Solumuutosten löytäminen perifeerisestä verestä voi auttaa hoitovasteen seuraamisessa, antamaan arvion lyhyt- ja pitkäaikaisennusteelle ja auttaa hoitosuunnitelman tekemisessä (Cowell, Tyler, Meinkoth & DeNicola 2008, 390).

Valkosolujen erittelylaskenta tehdään nykyisin ensisijaisesti koneellisesti, tosin ihmistä kuitenkin tarvitaan sivelyvalmisteen tekemisessä ja tutkimisessa. Valkosolu- ja punasolumorfologian mikroskooppinen tarkastelu on edelleen tärkeää uusien teknologisten menetelmien kehityksestä huolimatta. Verenkuvanalaysaattorin antaa tunnistamattomista soluista hälytyksiä. Näistä näytteistä valmistetaan sivelyvalmiste ja se värjätään May-Grünwald-Giemsan -tekniikalla (MGG), jonka jälkeen löydökset tarkistetaan mikroskooppisesti. (Ruutu ym. 2007, 100.) Hälytykset voivat johtua muun muassa siitä, että verenkuvanalaysaattori ei tunnista näytteessä olevia suuria soluja tai solujen nuoruusmuotoja. Hälytysten syinä voivat olla punasolujen, trombosyyttien tai leukosyyttien liian korkeat tai matalat arvot. Punasoluissa ja valkosoluissa olevat parasiitit voivat myös aiheuttaa hälytyksiä. Solujen morfologiset muutokset voivat johtua esimerkiksi infektiosta, lääkkeitä tai kasvainsairauksista. (Ranta 2012; Sankari 2012.)

Sivelyvalmisteesta tehdään valkosolujen erittelylaskenta sekä punasolujen, trombosyyttien ja valkosolujen morfologian ja määrän arviointi. Veren valkosolujen differentiaali- eli erittelylaskenta kertoo, kuinka paljon eri valkosolutyyppejä on valkosolujen määrästä. Tulos voidaan antaa joko prosenttiosuutena tai abso-

luuttisena määränä. Automaattisten solunlaskimien mittausperiaatteet ovat erilaisia. Osa suureista määritetään suoraan, ja osa on laskennallisia muista tutkimuksista johdettuja. Täydelliseen verenkuvaan kuuluu lisäksi valkosolujen erittelyjakauma, jossa valkosolut luokitellaan koon ja muiden ominaisuuksiensa perusteella eri ryhmiin. Automaattisilla solunlaskimilla saadaan selville neutrofiilien, lymfosyyttien, monosyyttien, eosinofiilien ja basofiilien absoluuttiset määrät ja suhteelliset osuudet. (Koski & Sinisalo 2010, 2857–2859.) Valkosolu- ja punasolumorfologian mikroskooppinen tarkastelu on ratkaisevan tärkeää, kun tehdään alustavaa diagnoosia joillekin hematologisille sairauksille (Ek 2009, 9).

3.1 Näytteenotto

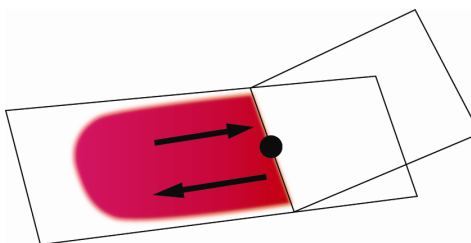
Ihannetapauksessa verinäyte tulisi ottaa ensimmäisellä yrittämällä eläimestä, joka on rauhallinen (Cowell ym. 2008, 390). Eläinten verinäytteet ovat yleensä laskimoverinäytteitä (Tuokko, Rautajoki & Lehto 2008, 37). Yön yli kestäväällä paastolla vältetään aterian jälkeinen lipemia. Tällainen rasvaverisyys voi häiritä tulosten luotettavuutta, esimerkiksi plasman proteiini-, fibrinogeeni- ja hemoglobiinimäärityksissä. (Harvey 2001, 3.)

Useiden eläinlajien verinäyte otetaan putkeen, jossa antikoagulanttina on etyleeni-diamiini-tetraetikkahappo (EDTA). EDTA-putkessa veren solut säilyttävät huoneenlämmössä luotettavan solumorfologiansa kaksi tuntia, mutta korkeintaan neljä tuntia jääkaapissa säilytettynä. Patologiset valkosolut säilyttävät morfologiansa huonosti. (Harvey 2001, 3.) Kanan verinäyte kerätään mieluiten putkeen, joka ei sisällä antikoagulanttia, koska EDTA-antikoagulantti voi hemolysoida soluja (Feldman, Zinkl & Jain 2000, 1147). Jos kanan verinäytteen säilyvyyttä halutaan lisätä, antikoagulanttina käytetään useimmiten hepariinia. Hepariinin haittapuolena on kuitenkin valkosolujen heikko värjäytyvyys ja trombosyyttikasojen syntyminen verinäytteeseen. (Harvey 2001, 3.)

3.2 Sivelyvalmisteen teko

Hyvin tehty laadukas sivelyvalmiste on välttämätön perifeerisen verisolujen tunnistamisessa ja arvioinnissa (Cowell ym. 2008, 391). Sivelyvalmiste tehdään puhtaalle objektilasille ja siihen merkitään potilaan tunnistetiedot ja päivämäärä lyijykynällä tai tussilla, joka kestää liuottimia (Bain & Lewis 2012, 60). Näytteen tulee olla tuoretta, jotta solumorfologia säilyy alkuperäisenä, ja hyvin sekoitettua sivelyvalmistetta tehtäessä. Vetolasin tulee olla objektilasia kapeampi, ja lasin reunojen pitää olla hiotut. Myös vetolasin on oltava ehjä ja puhdas hyvän lopputuloksen takaamiseksi. (Cowell ym. 2008, 391–392; Mahlamäki 2004, 276–277.)

Veripisara (5–10 µl) tiputetaan objektilasille noin 1–1,5 senttimetriä lasin huurrutetusta päästä tai lasin loppupäästä. Veripisara sivellään välittömästi, jotta solut jakautuvat tasaisesti koko lasille. Veripisaran eteen lasketaan vetolasi ja se vedetään pisaraan 30–45 asteen kulmassa. (Aspinal 2003, 286.) Kun veripisara on levittynyt vetolasin reunaa vasten, näyte työnnetään vetolasin avulla kevyesti objektilasin toista päätä kohti. Sivelystä tulee noin 3 cm pitkä, veripisaran ollessa oikean kokoinen. Laadukas sivelyvalmiste on pyöreäpäinen, riittävän pitkä, tasaisesti oheneva ja tasalaatuinen (kuva 1). Valoa vasten katsottaessa valmiste pyöreässä päässä on näkyvissä sateenkaaren värit. (Bain & Lewis 2012, 60.)



Kuva 1. Sivelyvalmisteen teko (Kuva: Joni Asikainen, mukaillen Kekkonen & Tonteri 2012).

Sivelyvalmiste tulee kuivata heti huolellisesti joko ilmassa heiluttelemalla tai puhaltimen avulla (Cowell ym. 2008, 391–392). Hitaasti kuivuneessa näytteessä solumorfologia kärsii: solut kutistuvat, sytoplasma vakuolisoituu ja tumarakenne muuttuu (Bain & Lewis 2012, 60). Sivelyvalmistetta suositellaan tehtäväksi kahdesta neljään samasta näytteestä, jotta niistä voidaan etsiä mahdollisimman edustava ja onnistunut sivelykohta (Eläinlaboratorio Vetlab 2012). Laadukas sivelyvalmiste ja erittelylaskennan suorittaminen on bioanalytikolle ammattitaitoa vaativaa työtä ja vaatii jatkuvaa kouluttautumista verisolujen muutosten havaitsemiseksi (Cowell ym. 2008, 390).

3.3 Sivelyvalmisteen virhelähteet

Vialliseen sivelyvalmisteseen voi olla monia syitä. Epätasainen veto tai osittain hyytynyt näyte voi synnyttää epätasaisen ”räsymaton” sivelyvalmisteseen. Sivelyvalmisteeissa voi olla rasvaisuuden tai staattisen sähköön aiheuttamia reikiä. Likaisesta vetolasista tai epätasaisesta vetolasin reunasta voi aiheutua viiruja sivelyvalmisteseen. Jos veripisara on liian pitkään objektilasilla ennen vetoa, valkosolut kasaantuvat valmisteen alkupäähän, ja sivelyvalmisteeesta tulee epätasainen. (Bain & Lewis 2012, 58.)

Nopea veto tai pieni vetokulma voivat aiheuttaa liian paksun sivelyvalmisteen. Liian paksusta sivelyvalmisteeesta punasolujen ryhmitys ja morfologia eivät ole arvioitavissa. Paksussa sivelyvalmisteeissa valkosolut kutistuvat hitaan kuivumisen takia ja niitä on vaikea tunnistaa. Liian ohuesta sivelyvalmisteeesta ei pysty arvioimaan punasolujen ryhmitystä, morfologiaa, eikä myöskään valkosolujen ja trombosyyttien määriä. Ohuessa näytteessä valkosolut ovat hajonneet osittain. Pienestä verimäärästä tehty sively on liian lyhyt. Lyhyestä sivelyvalmisteeesta ei saa luotettavia tutkimustuloksia, koska morfologisesti hyvä alue on niin kapea. (Bain & Lewis 2012, 58.)

3.4 Sivelyvalmisteen värjääminen

Suomessa perifeerisen veren sivelyvalmisteet värjätään lähes yksinomaan Romanowsky-väreihin kuuluvalla May-Grünwald-Giemsa-tekniikalla (MGG) (Siitonen & Jansson 2007, 109). MGG-värjäyksen tärkeimpänä ominaisuutena on se, että sillä saadaan eriteltyä värisävyjen avulla sytokemialliset ominaisuudet, muun muassa erittelevä värjäytyminen granuloille ja tumalle (Hyvärinen, Jännes, Nikkilä, Saris & Vuopio 1972, 548). Väriliuosten värikomponentit: metyleenisini, atsuuri ja eosini Y erottelevat solujen rakenteet sitoutumalla eri tavalla happamiin ja emäksisiin ryhmiin. Tuman nukleiinihapot, nukleoproteiinit, sytoplasman proteiinit ja basofiilien granulat värjäytyvät emäksisillä metyleenisinisellä ja atsuurilla sinisiksi. Solujen emäksiset rakenteet, esimerkiksi punasolujen hemoglobiini ja eosinofiilien granulat värjäytyvät happamalla eosiinilla punertaviksi. (Penttilä 2003, 276–277.)

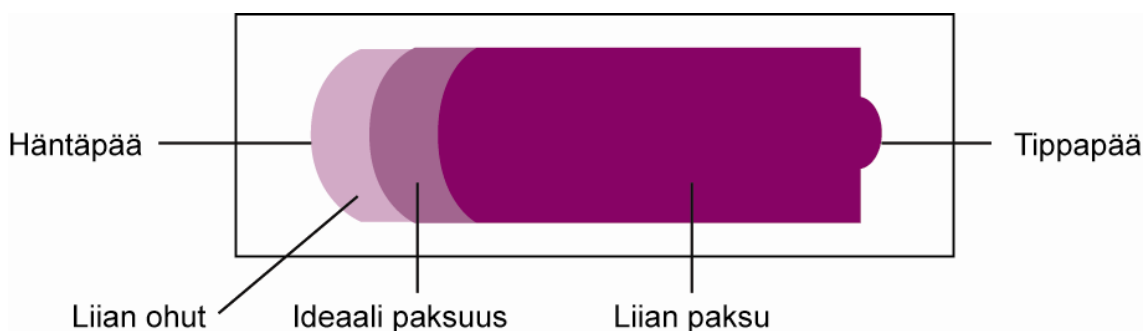
Pikavärejä käytetään jonkin verran sivelyvalmisteen värjäyksessä, esimerkiksi päivystysaikana. Useimmat pikavärikitit, kuten Diff-Quik, Hemacolor ja Quick III, eivät erottele kovin hyvin tumallisia punasolujen nuoruusmuotoja. Sivelyvalmis-teille saadaan kuitenkin suhteellisen vakioitu värjäystulos pikaväreillä. Sivelyvalmistetta pidetään kiinni lasin toisesta päästä ja sitä kastetaan yleensä ensin alkoholiin, joka kiinnittää solut objektilasiin. Sen jälkeen sivelyvalmiste kastetaan metyleenisini-värisekoitteeseen, joka värjää tumat. Lopuksi lasi kastetaan eosinia sisältävään liukseen, joka värjää soluliman. Jokaisen liuosvaihdon välissä sivelyvalmisteesta valutetaan nopeasti ylimääräinen neste imupaperille. Viimeisen liuoksen jälkeen, ennen näytteen ilmakei-vausta sivelyvalmiste huuhdellaan hana- tai tislattulla vedellä. (Cowell ym. 2008, 392.)

Jos sivelyvalmisteen päälle liimataan neutraalilla liimalla peitinlasi, näyte säilyy paremmin ja kestää useita tarkasteluja (Happonen, Järvinen, Ranta & Järvinen 2001, 7). Sivelyvalmiste säilyy haalistumatta useita vuosia, kun sitä säilytetään pimeässä. Peitinlasi suojaa sivelyvalmistetta mekaaniselta kulumiselta, naarmuilta ja pölyyntymiseltä. Peitinlasi tulee olla tarpeeksi suuri, jotta näytteestä saadaan tutkittua sekä häntäpäätä että reunaosia. (Bain & Lewis 2012, 63.)

3.5 Sivelyvalmisteen mikroskointi

Laadukas, hyvin huollettu mikroskooppi ja korkealaatuiset 10-, 20-, 40-, 50- ja 100-kertaiset objektiivit ovat tärkeimmät työvälineet sivelyvalmisteen tutkimisen kannalta. Sivelyvalmiste (kuva 2) tulisi tutkia niin, että yleissilmäys aloitetaan lasin paksummasta ”tippapäästä” ja edeten lasin ohuempaan ”häntäpään”. Valmisteen mikroskointi aloitetaan pienillä, 10- tai 20-kertaisilla suurennoksilla. Näillä pienillä suurennoksilla arvioidaan sivelyvalmisteen yleinen laatu: värjäytyvyys, yleispaksuus ja solujen jakautuminen lasilla. (Cowell ym. 2008, 390.)

Yleisen tarkastelun jälkeen soluja aletaan tarkastella lähemmin 40-kertaisella suurennoksella. Solujen tarkastelu tehdään sivelyvalmisteesta alueelta, jossa solut eivät ole sijoittuneet päällekkäin. Tarkasteltava alue löytyy yleisimmin sivelyvalmisteen loppupäästä, hieman höyhenmäisen reunan sisäpuolelta. Värjäämättömällä lasilla tämä kohta on hohtava, kun lasia pidetään epäsuorassa valossa. Tutkittavalla alueella sijaitsevien solujen solumorfologian arvioiminen on luotettavinta. Kun sivelyvalmistetta mikroskopoidaan 10- tai 20-kertaisella suurennoksella sivelyvalmisteen reunoilla ja erityisesti ohuen päänsä lopussa voidaan nähdä trombosyyttiaggregaatteja, rihmamadon toukkamuotoja, suuria poikkeavia soluja tai organismeja fagosytoivia soluja. (Cowell ym. 2008, 394.)



Kuva 2. Sivelyvalmisteen tutkiminen (Kuva: Joni Asikainen, mukailen Tonteri & Kekkonen 2012).

Näytelasilta tarkastellaan soluja ensin 10- tai 40-kertaisella suurennoksella. Sen jälkeen sivelyvalmisteen päälle tiputetaan immersioöljyä ja solumorfologiaa tutkitaan tarkemmin 50- tai 100-kertaista öljyimmersio-objektiivia käyttäen. (Bain & Lewis 2012, 33.)

3.6 Sivelyvalmisteen arviointi

Sivelyvalmistetta mikroskopoidessa on otettava aina huomioon se, että jokaisella eläimellä on omat laj ominaisudet erityispiirteet (Liinamaa 1989, 54). Eläimen punasoluryhmitystä voidaan arvioida karkeasti tutkimalla sivelyvalmiste mikroskoopin pienellä suurennoksella. Eläimillä joilla ei ole anemiasa, punasolut sijaitsevat sivelyvalmisteen hyvin lähekkäin ja päällekkäin. Tällöin sivelyvalmisteen paksummassa päässä olevat punasolut estävät lähes kokonaan valon läpäisyn mikroskoopin kokoojalinssin läpi. Aneemisen eläimen sivelynäytettä on helppo tarkastella, sillä punasolut ovat kauniisti vierekkäin. Luotettavaa punasoluryhmituksen arviointia ei voi tehdä liian ohuesta tai paksusta näytteestä. (Cowell ym. 2008, 394.)

Valkosolujen määrää voidaan tarkastella ja arvioida karkeasti mikroskoopin pienellä suurennoksella, käyttäen luokitteluna matala, normaali vai korkea. Valkosolujen erittelylaskenta ja suhteellisten osuuksien tarkastelu on helpompaa suorittaa käyttäen 40- tai 50-kertaista suurennosta. Solujen morfologiaa tarkastellaan 40- ja 100-kertaisilla suurennoksilla. (Cowell ym. 2008, 395.) Neutrofiilejä mikroskopoidessa arvioidaan solujen määrää ja morfologiaa. Määrä arvioidessa saadaan kuva siitä, onko neutrofiilejä normaali määrä, niukasti vai runsaasti. (Liinamaa 1989, 54–55.)

Lymfosyyteistä arvioidaan myös määrä sekä morfologia. Määrän arvioinnissa käytetään luokittelua lievä lymfosytoosi, lymfosytoosi vai lymfopenia. Tiedetyt virusinfektiot lisäävät lymfosyyttien määrää veressä. Morfologiassa huomioidaan solun kypsyysasteen koko ja tuman muoto. Epänormaaleja solulöydöksiä ovat karvasolut, epämuodostuneet tumat, uurretumaisuus sekä koon, muodon ja kypsyysasteen vaihtelut. (Liinamaa 1989, 55.)

Monosyyttien määrällinen luokittelujärjestelmä on suhteellinen monosytoosi, lievä monosytoosi, monosytoosi vai monosytopenia. Monosytoosia voi esiintyä muun muassa infektioissa, bakteeriendokardiitissa, leukemiassa, lymfoomassa ja kasvaintaudeissa. Morfologian puolella huomioidaan vakuolisaatiot ja mahdolliset promonosyytit eli kypsymättömät monosyytit. (Liinamaa 1989, 55.)

Eosinofiilien määrä arvioidaan normaali, lievä eosinofilia vai eosinofilia. Runsaasta eosinofiilien esiintymistä tavataan allergiataudeissa, parasiitti-infektioissa, kroonisissa ihotaudeissa ja eosinoleukemiassa. Morfologisissa muutoksissa kiinnitetään huomio hypogranulaatioon, vakuolisaatioon sekä iso- ja pienikokoiseen granulaan. (Liinamaa 1989, 56.)

Basofiileja ei yleensä nähdä perifeerisessä veressä. Jos niitä kuitenkin esiintyy runsaasti, se on yleensä merkki myeloproliferatiivisesta syndroomasta eli monikykyisten kantasolujen pahanlaatuisesta verisairaudesta. Basofiilien määrä arvioidaan: ei basofiliaa, lievä basofilia vai basofilia. Morfologiassa huomioidaan hypogranulaatio. (Liinamaa 1989, 57.)

Trombosyyttien määrää ja niiden morfologiaa arvioidessa käytetään suurinta objektia (Cowell ym. 2008, 395). Määrällisyysarviointi on normaali, lisääntyneet vai vähentyneet. Trombosyytit esiintyvät yleensä yksittäin. Trombosyytit voivat kuitenkin muodostaa joskus trombosyyttiaggregaatteja, jotka johtuvat artefaktoista näytteessä. Trombosyyttien ryhmittäytyessä neutrofiilien pinnalle, sitä kutsutaan trombosyyttisatellitismiksi. (Pelliniemi 1998, 1184.) Trombosytoosia havaitaan esimerkiksi reaktiivisessa trombosytoosissa (muun muassa hemolyyysin yhteydessä), essentiaalisessa trombosytoosissa ja kroonisessa myeloidisessa leukemiassa. Trombosytopeniaa voi ilmetä lisääntyneessä perifeerisessä kuluksessa (esimerkiksi DIC, vuoto tai immuunimekanismi) tai tuotantohäiriössä. Morfologisia epänormaaleja solumuotoja ovat jätti- ja mikromuodot, granulaatiohäiriöt ja megakaryosyytit periferiassa. (Liinamaa 1989, 58.)

4 Verisolujen tehtävät

Veren tehtävä eri eläinlajeilla on toimia erilaisten aineiden kuljettimena. Veri kuljettaa ravintoaineita ruoansulatuselimistöstä kudoksiin, metabolian jätetuotteita soluista erityselimiin, happea keuhkoista kudoksiin, hiilidioksidia kudoksista keuhkoihin, ja endokriiniset rauhaset erittävät hormoneja läpi elimistön. Veri auttaa myös kehon lämpötilan säätelyssä, ylläpitää solujen vesi-elektrolyyttitasapainoa ja happo-emästasapainoa, sekä toimii suojana mikro-organismeja vastaan. Veren solut ja kehon nestemäiset osat auttavat näissä tehtävissä. Veressä ei ole pelkästään soluja ja molekyylejä, joiden tehtävänä on osallistua kuljetukseen, vaan siinä on myös molekyylejä, joita pitää kuljettaa. Verisolut on jaettu kolmeen ryhmään: punasolut eli erytrosyytit, valkosolut eli leukosyytit ja verihiutaleet eli trombosyytit. Nämä kolme verisoluryhmää muodostuvat aikuisella eläimellä luuytimen hematopoieesissa. (Solunetti 2006; Swenson 1984, 15,18.)

Punasolujen pääasiallinen tehtävä on hapen kuljetus keuhkoista elimistön soluihin hemoglobiinin avulla. Ne osallistuvat myös hiilidioksidin kuljettamiseen soluista keuhkoihin. (Bjålie, Haug, Sand, Sjaastad & Toverud 2009, 269.) Trombosyytit ovat osallisena verenvuodon tyrehtyttämisessä. Ne tarttuvat kiinni vaurioituneen verisuonen seinämään, ja samalla ne houkuttelevat vauriokohtaan uusia trombosyyttejä. Paikalla olleet ja uudet trombosyytit kiinnittyvät toisiinsa, ja vuotokohtaan syntyy löyhä trombosyyttitulppa. Tämän reaktion myötä suonen vauriokohdasta vapautuu hyytymistekijöitä aktivoivia aineita, ja näin käynnistyy veren hyytyminen. (Palva & Vilpo 2010, 24.)

Valkosolut jaetaan kahteen pääryhmään: granulosyytteihin, joihin kuuluvat neutrofiilit, eosinofiilit ja basofiilit sekä agranulosyytteihin, joita ovat lymfosyytit ja monosyytit. Immuunipuolustuksen järjestelmät toimivat toisistaan riippumatta. (Solunetti 2006.) Suurin osa laskimoissa kiertävistä valkosoluista on neutrofiileja. Neutrofiilit fagosytoivat eli ottavat sisäänsä ja sulattavat muun muassa bakteereita. (Siitonen & Jansson 2007, 2.) Liuskatumaiset eosinofiilit puolestaan osallistuvat elimistön puolustusjärjestelmään (Walker 1999, 395). Monosyytin

ensisijainen tehtävä elimistössä on solunsyönti, se on elimistön tärkein fagosytoiva solu. Monosyytti pystyy käsittelemään entsymaattisesti vieraan antigeenin ja esittelemään antigeenin lymfosyyteille. (Palva & Vilpo 2010, 23.) Basofiilit ovat solunsyöjäsoluja, ja niillä on tärkeä rooli tulehdusreaktioissa (Weiss & Wardrop 2001, 1071).

5 Lajiominaiset normaalit kypsät verisolut

Verisolujen määrä ja lajille ominaiset solut vaihtelevat eri eläinlajien välillä. Esimerkiksi punasolujen koko ja paksuus vaihtelevat lajikohtaisesti ja ravitsemuksen mukaan. Koirilla punasolut ovat kaksoiskoveria, hevosella ja kissalla vain lievästi koveria. (Feldman ym. 2000, 1150–1151.) Terveiden nautojen punasoluissa ei ole normaalisti keskikalpeutta (Jain 1986, 194). Kylmäverisillä hevosilla on matalampi hematokriitti kuin lämminverisillä hevosilla (Sjaastad, Sand & Hove 2010, 9).

Kanan punasolut ovat muista lajeista poikkeavia, sillä ne ovat tumallisia ja muoltaan pitkänomaisia. Punasolujen raharullanmuodostusta löydetään normaali- löydöksenä hevosilta. Kissojen ja koirien raharullalöydöksiä on jonkin verran, mutta niiden lisääntynyt määrä kuvastaa muun muassa plasman proteiinipitoisuuden nousua, raskautta, fibriinipitoisuuden nousua, virusinfektiota tai pahanlaatuista kasvainta. Naudoilla punasolujen raharullaa ei esiinny normaalisti. (Liinamaa 1989, 14, 47.) Atyyppisiä punasoluja voi esiintyä sairauden yhteydessä kissoilla ja koirilla muita eläinlajeja useammin (Jain 1986, 104).

Valkosolujen normaalimäärässä ja koonvaihtelussa on paljon eroja eri eläinlajien välillä (Rodak 2002, 134). Esimerkiksi naudalla on 50–70 prosenttia lymfosyyttejä valkosoluista, kun koiralla vastaava määrä on 1–30 prosenttia (Liinamaa 1989, 54). Kanan veressä ei ole neutrofiilejä, vaan niitä vastaavia heterofiilejä (Feldman ym. 2000, 1150–1151). Myös monosyyttien normaalimäärissä on suuria eroja eläinlajien välillä. Monosytoosi liittyy erilaisiin infektioihin, kasvaimiin ja rappeumatiloihin. (Happonen ym. 2001, 10.) Basofilia on eläimillä

harvinaista. Basofiilien määrän lisääntymistä aiheuttavat parasiitit, ruoansulatuselimistön sairaudet ja patologiset maksa- ja munuaissairaudet. Basopenialla ei ole todettu olevan kliinistä merkitystä. (Cowell, Tyler & Meinkoth 2002, 213.)

Eläinten verinäytteet olisi hyvä ottaa niin, että näytteenotto häiritsisi eläintä mahdollisimman vähän. Eläimen stressitila, jännitys ja ahdistus näytteenottohetkellä vaikuttavat saatuihin arvoihin. Koirien ja kissojen stressi ja kiihtyminen aiheuttavat fysiologista leukosytoosia veriarvoissa, joka helposti tulkitaan patologiseksi. Nautojen ja hevosten veriarvoissa leukosyyttivasteet ovat sekä tulehdus- että stressitiloissa heikompia, kuin muilla kotieläimillä. Leukopeniaa eli valkosolujen vähäisyyttä veressä aiheuttavat monet virustaudit, muun muassa kissarutto ja parvovirus. Äkillinen valkosolujen suuri kulutus ja luuytimen alentunut solutuotanto aiheuttavat myös leukopeniaa. Hevosella voidaan nähdä toksisia neutrofiilejä eli tuma- ja sytoplasmamuutoksia veressä. Tuman hypersegmentaatiota esiintyy koiralla luuytimen voimakkaassa reaktiivisessa tilassa tai kypsymishäiriöissä. (Happonen ym. 2001, 8–9.)

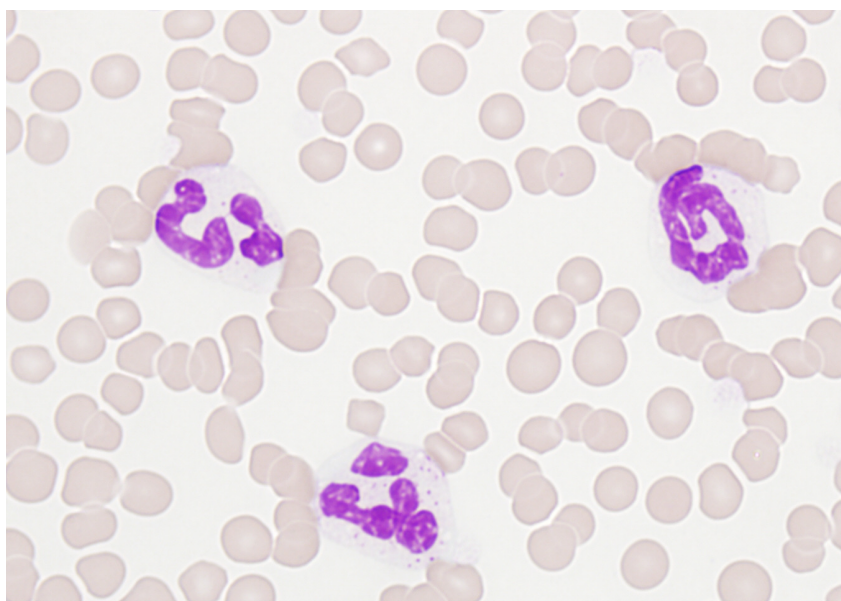
5.1 Hevonen

Kylmäveristen ja lämminveristen hevosten välillä on muutamia hematologisia eroja. Muun muassa hematokriitti on hieman korkeampi lämminverisillä, mutta muut eroavaisuudet eivät ole niin selviä. Punasolujen koko on hevosilla keskimäärin 5,7 μm . (Cowell ym. 2002, 205.) Punasolut kypsyvät kokonaan luuytimessä, ja erytropoieesi lähtee käyntiin monia muita lajeja hitaammin, joten hoitojen vasteaika on hevosilla pidempi kuin muilla eläinlajeilla (Weiss & Wardrop 2001, 1069). Hevosen verinäytteen pitkittynyt säilytys huoneenlämmössä aiheuttaa hemolyysiä. Raharullamuodostus on hevosten verinäytteissä yleistä. Howell-Jolly-kappaleita löytyy harvoin terveiltä eläimiltä, mutta useammin niitä todetaan aneemisilla hevosilla. (Cowell ym. 2002, 205.)

Hevosen trombosyytit ovat pienempiä ja värjäytyvät vaaleammiksi kuin muilla kotieläimillä. Hevosen sivelyvalmistetta tulisi mikroskopoida himmeään valon avulla ja tarkastella valmisteen ohutta päätä, jotta mahdolliset trombosyyttikasat löytyisivät näytteestä. (Cowell ym. 2002, 207.) Perifeerisen veren kliininen mittaaminen on heikko trombosyyttimäärän indikaattori (Weiss & Wardrop 2001, 1070).

Tulehdusreaktiot eivät näy hevosten valkosoluissa määrällisesti. Hevosilla solujen vasemmalle siirtymistä pitää tarkastella granulosyyttisarjan soluissa. Neutrofiilien hyposegmentaatio on ensimmäinen merkki vasemmalle siirtymisestä eli luuytimen neutrofiilivarastojen siirtymästä perifeeriseen vereen. (Weiss & Wardrop 2001, 1070–1071.) Tulehdustiloissa neutrofiilien sytoplasman toksinen granula värjäytyy tummemmaksi (Cowell ym. 2002, 208).

Hevosen neutrofiilissä (kuva 3) on usein lohkoutunut tuma ja karkea kromatiinirakenne. Sytoplasma on usein melko väritöntä. Joillakin hevosilla voi erottua heikosti tuman lohkoutuminen, mutta kromatiinin rakenne on karkea ja tuman reunoilla on teräviä ulokkeita. Terveillä eläimillä on harvoin sauvatumaisia neutrofiileja perifeerisessä veressä. (Cowell ym. 2002, 206.)



Kuva 3. Hevosen liuskatumaisia neutrofiileja (Kekkonen & Tonteri 2012).

Hevosten eosinofiilit ovat hiukan suurempia kuin neutrofiilit ja muistuttavat valdelmia. Eosinofiileilla on lohkoutunut tuma ja runsaasti hienoa tumman purppuran väristä granulaa, jotka usein peittävät myös tuman yksityiskohtia. (Cowell ym. 2002, 205.)

Hevosen lymfosyytit ovat läpimitaltaan 9–12 µm. Suurin osa lymfosyyteistä on pienikokoisia, ja niiden tuma on värjäytynyt tummaksi. Pienissä lymfosyyteissä sytoplasmaa on vain vähän. Lymfosyytit ovat muodoltaan pyöreitä, tuma on suuri ja pyöreä ja tuman kromatiini on kokkareista. Sytoplasma on väriltään kalpeansinistä. Lymfosyyttejä on noin 25–49 prosenttia kokonaisvalkosolumäärästä. 5 prosenttia lymfosyyteistä voi sisältää pienikokoista granulaa sytoplasmassa. (Weiss & Wardrop 2001, 1072.)

Monosyytit ovat kiertävän veren suurimpia valkosoluja. Monosyytin tuman muoto vaihtelee. Se voi olla muodoltaan ovaali, kahteen tai kolmeen osaan lohkoutunut, hevosenkengän muotoinen tai epäsäännöllinen. Tuman rakenne on neutrofiilia vähemmän tiivistynyt. Sytoplasmaa on runsaasti, ja se värjäytyy harmaaksi. Monosyyteissä esiintyy harvoin vakuoleja. Ohuita, hiusmaisia ulkoneimia voi nähdä pitkin monosyytin solukalvoa. (Cowell ym. 2002, 207.)

Hevosen basofiilit ovat hiukan suurempia kuin neutrofiilit. Basofiilissä on lohkoutunut tuma ja runsaasti hienoa tumman purppuran väristä granulaa, ja usein ne peittävät myös tuman yksityiskohdat. (Cowell ym. 2002, 206.)

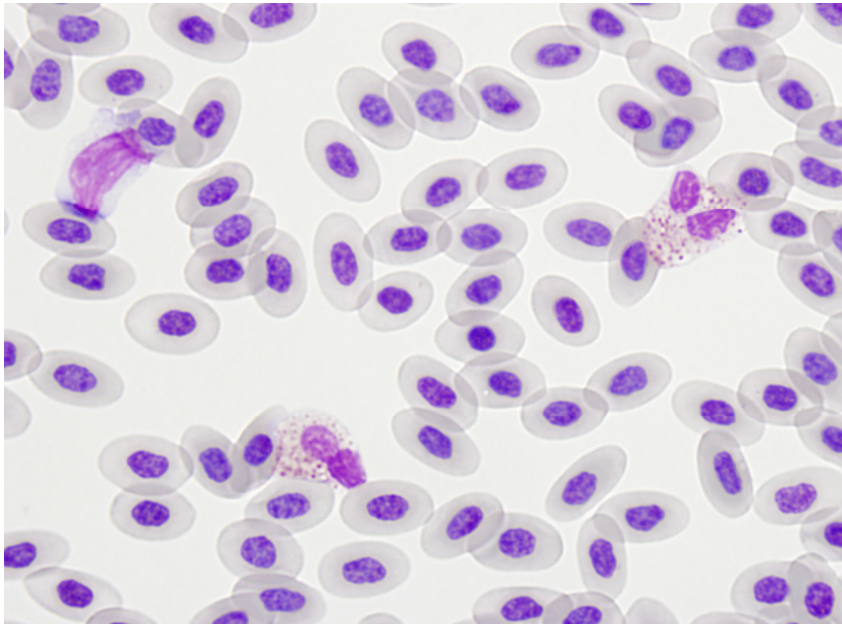
5.2 Kana

Kanan veren erittelylaskenta tehdään aina käsin, ja se on haastavaa. Vaikka solujen morfologia olisikin normaali, tunnistamista voivat vaikeuttaa huomattavasti punasolujen morfologiset artefaktat, sytoplasmiset valoa taittavat vakuolit ja tuhruiset solut. Huonosti valmistettu näyte voi aiheuttaa solujen piikikkyyttä, kahtiajakautuneita tumia sekä tumattomien fragmenttien esiintymistä punasolun sytoplasmassa. (Feldman ym. 2000, 1147, 1149.)

Punasolujen esiasteet luuytimessä ovat pyöreitä, ja kun solut ovat kypsiä, ne ovat ovaalin muotoisia. Punasolun muodon vaihtelut ja tuman jakautuminen ovat tavallisia. Kanan kypsät punasolut ovat soikeita, ja ne ovat kooltaan 12 x 6 µm. Punasolun sytoplasma on homogeeninen ja eosinofiilinen. (Feldman ym. 2000, 1149.) Solun keskellä on ovaalin muotoinen tuma, jossa on tiivistynyt kromatiinirakenne (Hawkey & Dennett 1989, 9). Koska erytropoieesi on suonsisäinen, voi terveiltä kanoilta löytyä perifeerisestä verestä satunnaisesti epäkypsiä tumallisia punasoluja. Kanojen perifeerisessä verenkierrossa nähdään prosentuaalisesti hieman enemmän punasoluja kuin useimmilla muilla nisäkkäillä. Kanan punasolut toimivat pääosin samalla tavalla kuin nisäkkäiden punasolut, mutta huomattavia biokemiallisia erojakin on. Kanojen hemoglobiinirakenne on punasoluissa samanlainen kuin nisäkkäillä. (Feldman ym. 2000, 1149.)

Kanan trombosyytit ovat pyöreitä ja hieman ovaalin muotoisia. Pyöreä tuma sijaitsee keskellä solua, ja sytoplasma on väriltään kirkas. Pieni lymfosityytti voi muistuttaa trombosyyttiä, mutta lymfositin sytoplasma värjäytyy siniseksi. (Feldman ym. 2000, 1152.)

Kanan perifeerisiä granulosyyttisarjan verisoluja ovat heterofiilit, eosinofiilit ja basofiilit. Kanan veressä ei ole neutrofiileja, vaan niitä vastaavia heterofiileja. Kypsä heterofiili on pyöreä, ja läpimitaltaan se on 13 µm. Sytoplasma on värittön, ja siinä on punertavanoransseja sauvan muotoisia granuloita, jotka osittain peittävät tuman. Tuma on kaksi- tai kolmilohkoinen, ja siinä on karkea kromatiinirakenne. Kanan heterofiilien toiminnalla on yhtäläisyyksiä nisäkkäiden neutrofiilien kanssa. Kanan heterofiili (kuva 4) kykenee tuhoamaan bakteereja samalla tavoin kuin ihmisen ja koiran neutrofiilit, mutta kyky fagosytoosiin ja hapetimen tuottoon on vähäisempi kuin ihmisellä ja koiralla. Heterofiilien fagosytoosi ja tuhoaminen ovat tehottomia kanan kuoriutumisen jälkeen. Kanan heterofiilit ovat toiminnallisesti kypsiä 2–3 viikkoa kuoriutumisesta. (Feldman ym. 2000, 1150–1151.)



Kuva 4. Kanan punasoluja ja heterofiilejä (Kuva: Kekkonen & Tonteri).

Kanan eosinofiilit vaihtelevat muodoltaan pyöreästä epäsäännöllisen muotoiseen. Ne ovat noin 12 µm halkaisijaltaan. Eosinofiileissä on lohkomainen tuma. Sytoplasma on vaaleansininen, jossa on eosinofiilisiä pyöreitä tai ovaalin muotoisia granuloita ja sytoplasma värjäytyy kirkkaammin kuin heterofiileissä. Epäkypsillä heterofiileillä on pyöreitä granuloita ja ne voidaan sekoittaa eosinofiileihin. (Feldman ym. 2000, 1151.)

Kanan perifeerisessä veressä valkosoluista on eniten lymfosyyttejä. Sekä pienten että keskikokoisten lymfosyyttien esiintyminen kanan veressä on normaalia. Pienet lymfosyytit ovat pyöreitä, niissä on pyöreä tuma ja kokkareista kromatiinia. Tuman osuus on iso sytoplasmaan nähden, ja pieni määrä basofiilistä sytoplasmaa reunustaa tumaa. Joskus pienen lymfosyytin sytoplasma muistuttaa trombosyytin sytoplasmaa. Trombosyytin tunnistaa kirkkaasta sytoplasmasta. Keskikokoisessa lymfosyytissä on näkyvämpi ja joskus vaaleamman oloinen basofiilinen sytoplasma kuin pienessä lymfosyytissä. Suuremmilla lymfosyyteillä tuma voi olla kulmikkaampi tai litistynyt. Keskikokoinen ja suuri lymfosyytti voi olla vaikea erottaa monosyytistä. Monosyyteillä on hieman basofiilisempi sytoplasma, ja joskus niissä on hienoa eosinofiilistä granulaa. (Feldman ym. 2000, 1151–1152.)

Kanan monosyytit ovat tavallisesti isoimmat valkosolusarjan soluista. Niiden läpimitta on noin 14 µm. Monosyyttejä tunnistaessa on oltava tarkkana, jotta ne voidaan erottaa isoista lymfosyyteistä. Monosyytit ovat pyöreitä, ja niissä on runsaasti granuloitunutta sytoplasmaa. Sytoplasma on väriltään siniharmaa, ja se voi olla vakuolisoitunut ja sisältää hienojakoista azurofiilistä granulaa. Tuma voi olla monimuotoinen, vaihdellen pyöreästä ovaalin muotoiseen. (Feldman ym. 2000, 1151.)

Kanan basofiilit ovat pyöreitä, noin 12 µm halkaisijaltaan. Tuma on vaaleansininen ja pyöreä, ja se sijaitsee solun keskellä. Tuma peittyy usein basofiilisen granulan alle. Granulat voivat hävitä tai hajota Wrightin värjäyksessä. Basofiilit ovat ensimmäisiä leukosyyttejä, jotka ilmestyvät kudoksiin tulehduksen varhaisvaiheessa. (Feldman ym. 2000, 1151.)

5.3 Kissa

Kissoilla on suurempaa vaihtelua valkosolujen normaaliarvoissa kuin koirilla. Kissoilla fysiologiset tekijät kuten pelko, vaikuttavat välittömästi veren valkosoluarvoihin, arvot voivat nousta jopa kolminkertaisiksi. Kissojen verinäytteitä ei saada otettua helposti muihin kotieläimiin verrattuna, ja siksi verta otetaan yleisimmin korvasta verikapillaareihin (Jain 1986, 126, 132).

Joskus nuorilla kissoilla 12 viikkoon asti esiintyy tumallisia punasoluja. Myös aikuisilla kissoilla voi olla normaalisti jonkin verran tumallisia punasoluja ilman lisääntyntä punasolutuotantoa. Kissan hemoglobiinin hapenottokyky on paljon matalampi kuin muilla eläinlajeilla. Howell-Jolly-kappaleita on 0,2–1,0 prosenttia kissojen punasoluista. Howell-Jolly-kappaleet ovat tuman jäänteitä ja värjäytyvät tummansinisiksi tai mustiksi Romanowsky-värillä. Heinzin kappaleet ovat erikoisesti kissan punasoluissa esiintyviä pieniä degeneroituneita hemoglobiinikappaleita. Ne värjäytyvät 0,5 prosenttisella metyleenisinisellä, mutta eivät tavallisesti käytetyillä väriaineilla. (Jain 1986, 130.)

Kissan trombosyytit voivat olla muodoltaan ovaaleja, pyöreitä tai reunoiltaan epätasaisia. Trombosyyttien koko vaihtelee normaalisti paljon, ja ne voivat olla kooltaan jopa punasoluja suurempia. (Walker 1999, 262.)

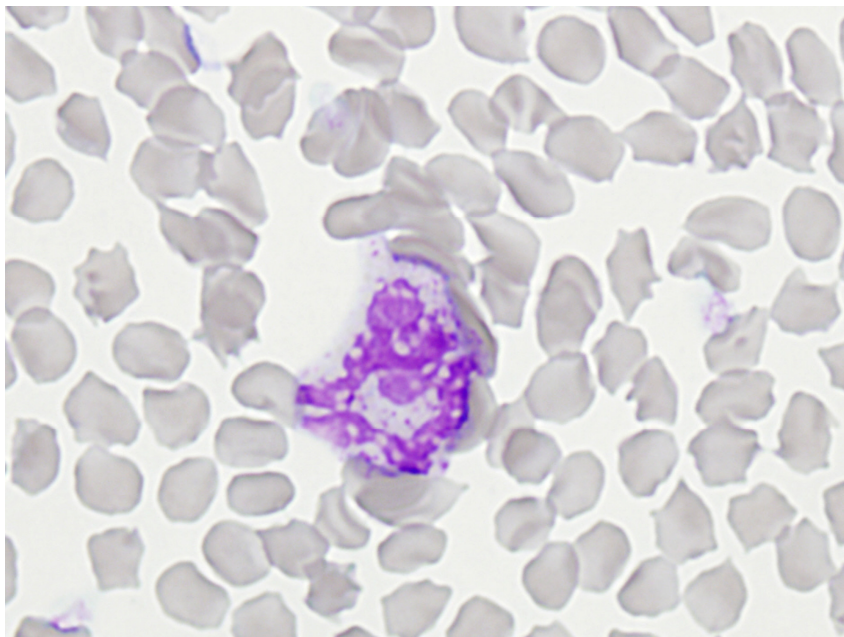
Neutrofiilin tuma on tyypillisesti kiertynyt. Tuman kalvossa on pieniä nystyjä, joskus kahdessa lohossa, ja kromatiini on osittain tiivistynyt. Joidenkin naaraiden (4,2–11,4 prosenttia) neutrofiileissa on pieniä ulokkeita, joita kutsutaan rumpupalikoiksi. Sytoplasma on harmahtavaa, ja siinä voi olla hieman vaaleanpunertavaa granulaa. Terveillä kissoilla on hyvin vähän sauvatumaisia neutrofiileja verenkierrossa. (Jain 1986, 133.)

Kissojen eosinofiilit sisältävät paljon sauvamaista granulaa. Spesifinen granula värjäytyy punertavaksi. Sytoplasmaa on pieni määrä granuloiden välissä, ja se saattaa värjäytyä hailakan sinertäväksi. Eosinofiilin tuma saattaa olla osittain granuloiden peitossa. Tuma on kypsän neutrofiilin kaltainen, joskaan ei yhtä lohkoutunut. (Jain 1986, 133.)

Pienet lymfosyytit ovat tyypillisiä kissalle. Tuma on yleensä pyöreä, mutta joskus myös pavun muotoinen. Kromatiini on vaihtelevasti tiivistynyt, mutta tuman ulkoreunat ovat selkeät. Sytoplasmaa on minimaalisesti. Se värjäytyy siniseksi, ja joskus näkyvissä on halo tuman ympärillä. Azurofiilistä pientä granulaa voi nähdä vain harvoin lymfosyytissä. Isoissa lymfosyyteissä on suurempi määrä vaaleansinistä sytoplasmaa. Nuorilla kissoilla suurten lymfosyyttien osuus on 12–20 prosenttia ja aikuisilla kissoilla noin 40 prosenttia. (Jain 1986, 134.)

Tyypillisin piirre monosyytille on harmaaksi värjäytyvä sytoplasma, jossa on usein hyvin erottuvia vakuoleja. Monosyytissä voi joskus olla hiukan punertavaa, huonosti erottuvaa granulaa. Tuman muoto on epäsäännöllinen. (Jain 1986, 134.)

Kissan basofiilin (kuva 5) muoto on ainutlaatuinen verrattuna muihin kotieläimiin. Kypsät basofiilit sisältävät runsaasti kalpeita, pyöreitä, haaleasti värjäytyneitä vaaleanpunertavia ja vaaleanoransseja granuloita. Sytoplasma on harmahtava. Epäkypsät basofiilit voivat lisäksi sisältää muutamia isompia, tumman purppuraksi värjäytyneitä granuloita. (Jain 1986, 133.)



Kuva 5. Kissan basofiili (Kuva: Kekkonen & Tonteri 2012).

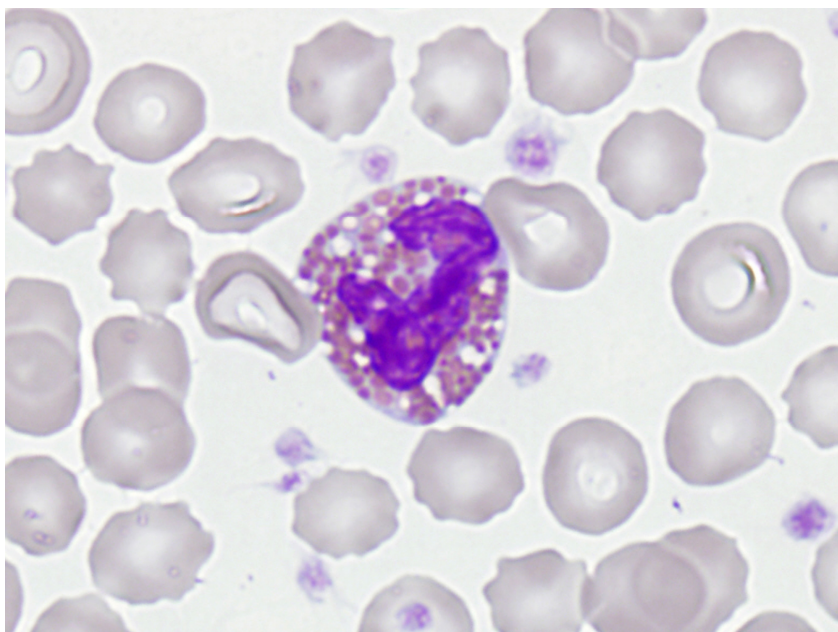
5.4 Koira

Koirien punasolut ovat tyypillisesti halkaisijaltaan 7,0 μm ja paksuudeltaan 1,7 μm . Joskus nuorilla koirilla voi esiintyä hemoglobiinikristalleja punasolujen sisällä ja ulkopuolella. Koirarotujen välillä on suuria eroja punasolujen normaaliarvoissa (RBC, Hb ja PCV). Koirien verinäytteissä on normaalisti paljon trombosyyttikasoja. (Jain 1986, 104.)

Nuorilla koirilla valkosolujen korkeat määrät ovat tavallisia. Koirien valkosolumäärät voivat kohota paljonkin niiden innostuessa, elimistöön vapautuvan adrenaliinin johdosta. Koiralla tulehdusreaktiot näkyvät hyvin valkosolujen määrän kasvuna. (Rizzi, Meinkoth & Clinkenbeard 2010, 107.) Pienikokoiset neutrofiilit

ovat koirilla yleisimpiä. Koirilla kypsän neutrofiilin tuma on lohkoutunut epäsäännöllisesti, ja siinä on pyöreitä ulokkeita. Solukalvo voi olla epäsäännöllinen tai rei'itetyn näköinen. Sytoplasma on hailakan harmaa, ja siinä on heikosti erottuvaa granulaa. Narttujen neutrofiileissa rumpupalikat ovat normaaleja. (Jain 1986, 119.)

Eosinofiilejä (kuva 6) on normaalisti vain pieniä määriä terveiden koirien sivelyvalmisteissa. Tuma on lohkoutunut yleensä kahteen osaan, ja kromatiini on vähemmän tiivistynyttä kuin kypsällä neutrofiilillä. Sytoplasma on kirkasta tai hiukan basofiilista ja sisältää hyvin erottuvaa vaaleanpunaista granulaa. Granuloiden määrä ja koko vaihtelevat koirilla paljon. Joskus koirien eosinofiilit sisältävät yksittäisiä isoja granuloita, jotka voidaan sekoittaa infektoituneeseen verisoluun tai epätavalliseen organismiin. (Walker 1999, 261.)



Kuva 6. Koiran eosinofiili (Kuva: Kekkonen & Tonteri 2012).

Lymfosyyteissä on koon vaihtelua koiran perifeerisessä veressä, ja pienikokoiset lymfosyytit ovat yleisimpiä. Pienten lymfosyyttien sytoplasma värjäytyy siniseksi, ja joskus on näkyvissä halo tuman ympärillä. Isoissa lymfosyyteissä on

suurempi määrä vaaleansinistä sytoplasmaa. Azurofiilistä pientä granulaa voi nähdä vain harvoin lymfosyytissä. (Walker 1999, 260.)

Monosyytit ovat keskimäärin suurimpia kypsistä veren valkosoluista. Monosyytin tyypillisin piirre on basofiilinen tai siniharmaa sytoplasma. Sytoplasma sisältää usein kooltaan vaihtelevia vakuoleja ja joskus pölymäistä azurofiilistä granulaa. Monosyytin tuma on hyvin vaihtelevan muotoinen. (Jain 1986, 119.)

Koirilla basofiilit ovat harvinaisia perifeerisessä veressä. Koirien basofiilit sisältävät vain vähän granulaa, ja ne värjäytyvät metakromaattisesti tummansinisiksi. Sytoplasma värjäytyy vaalean siniharmaaksi. Koirien basofiileistä voi aika ajoin puuttua granula kokonaan. Tästä johtuen koiran basofiilit voidaan sekoittaa helposti monosyytteihin. Erotuksena monosyyttiin basofiilissä on tuman päällä basofiilisiä granuloita, jotka näyttävät pieniltä vakuoleilta. Basofiilit voidaan silti tunnistaa koon, tuman morfologian ja sytoplasman värjäytymisen perusteella. (Walker 1999, 262.)

5.5 Nauta

Punasolujen läpimitta on 4–8 μm , ja niiden keskikoko on 5,8 μm . Nautojen punasoluissa ilmenee normaalisti anisosytoosia eli punasolujen erikokoisuutta. Punasolujen keskikalpeus on epätavallista terveellä naudalla. Akuuteissa sairauksissa punasolujen keskikoveruus aiheuttaa sen, että solut saavat kulhomaisen muodon. Tämä ilmiö on parasta katsoa sivelynäytteen paksummalta alueelta, koska punasolut säilyttävät siinä parhaiten oletetun muotonsa. Joillakin terveillä naudoilla on havaittu kliinisesti akantosytoosia eli piikkisoluisuutta. (Jain 1986, 194.)

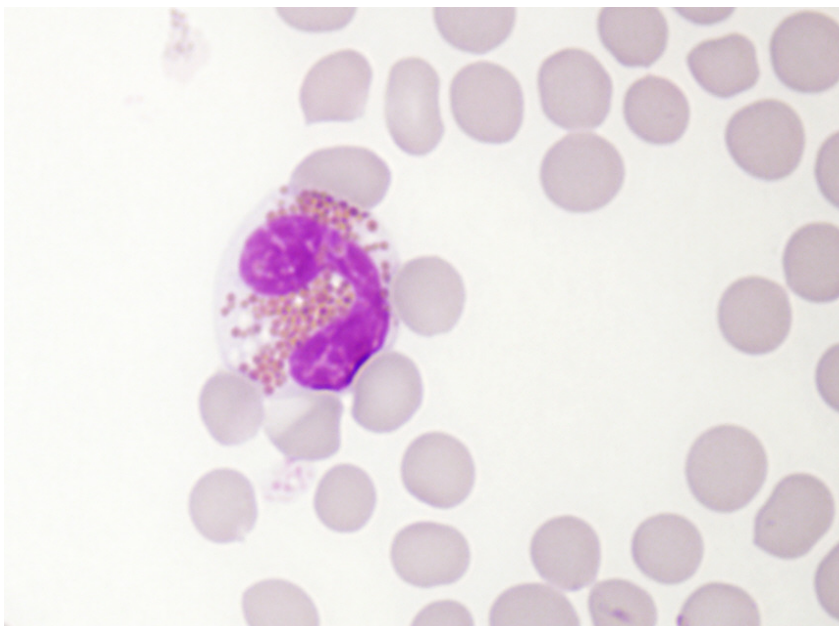
Yksittäiset trombosyytit ovat yleensä pieniä, mutta punasolun kokoisia jättitrombosyyttejä voi myös esiintyä. Trombosyytit ovat joko pieninä tai suurina rykelminä, ja yksittäiset trombosyytit voivat olla punasolujen päällä. Nämä yksittäiset punasoluja peittävät trombosyytit voivat olla merkinä veren parasiiteista. Taval-

lisesti naudan trombosyyteissä on punertavan purppuraa granulaa ja hauras, vaaleansininen sytoplasma. (Jain 1986, 197.)

Kiertävien valkosolujen määrä vaihtelee huomattavasti vasikoiden ja nautojen välillä. Naudan valkosolujen määrän vaihtelu voi johtua eläimen iästä, lihasaktiivisuudesta tai stressitilasta. Yleensä vastasyntyneillä ja kasvavilla vasikoilla (1–2 vuoden ikäisillä) on korkeat valkosolumäärät. Tämän jälkeen valkosolujen määrä alkaa vähentyä asteittain. (Jain 1986, 185.)

Kypsä neutrofiili on läpimitaltaan 10–15 μm , keskikoko on noin 11,5 μm . Neutrofiilin tuma on yleensä suhteellisen tasainen, mutta tumakalvo on epäsäännöllinen ja kuroutuu yhdestä tai useammasta kohdasta muodostamatta kuitenkaan todellisia filamentteja. Tuman lohkoutuminen rajoittuu yleensä yhden lohkon erottumiseen loppuosasta filamentin välityksellä. Sytoplasmassa on paljon tosumaista vaaleanpunaista tai punertavaa granulaa. Normaalissa naudan verinäytteessä epäkypsät sauvamaiset neutrofiilit ovat harvinaisia. (Jain 1986, 195.) Naudalla märkivässä tulehduksessa tulee nopeasti vasemmalle siirtymää, eli vereen siirtyy epäkypsiä neutrofiileja (Happonen ym. 2001, 8–9).

Naudan eosinofiilit (kuva 7) ovat halkaisijaltaan keskimäärin 12–13 μm , ja jotkut eosinofiilit voivat olla kooltaan jopa 15 μm . Eosinofiili on helposti tunnistettavissa sen lukuisista pienistä, pyöreistä, jalokivimäisistä, voimakkaan punaisista ja valoa taittavista granuloista. Granulat täyttävät melkein kokonaan sytoplasman, ja ne peittävät osittain tuman. Vaaleansininen sytoplasma on juuri ja juuri nähtävissä. Tuma voi olla kaksilohkoinen, mutta se on usein sauvamainen. (Jain 1986, 195.)



Kuva 7. Naudan eosinofiili (Kekkonen & Tonteri 2012).

Lymfosyytit ovat kooltaan 8–15 μm . Pienet lymfosyytit ovat pyöreitä, tuma on tiivistä ja se täyttää melkein koko solun, joten sytoplasmaa ei juurikaan nähdä. Keskikokoisen lymfosyytin tuma on hieman vaaleampi kuin pienellä lymfosyytilä. Kromatiinirakenteessa on tummempia läiskiä, joiden välissä on vaaleammin värjäytynyttä kromatiinia. Tuma on pyöreä, mutta siinä voi olla pieni lovi. Sytoplasma on kapeasti tuman reunoilla, mutta se voi olla solussa toispuoleinen riippuen tuman sijainnista. Sytoplasma värjäytyy yleensä haaleansiniseksi, ja sen reunat ovat tummat. Ison lymfosyytin tuma ja sytoplasma on paljon vaaleampi kuin keskikokoisen lymfosyytin tuma. Tuman rakenne on tasainen, ja tumassa voi esiintyä tummempia läiskiä. Tuma on usein pyöreä, ja tuma sijoittuu solussa epäsymmetrisesti. Joidenkin isojen lymfosyyttien tuma saattaa olla munuaisen muotoinen tai voimakas halkeama voi jakaa sen kaksiliuskaiseksi. Tällaista solua kutsutaan Riederin soluksi. Riederin solut sekä azurofiilisen granulan esiintyminen on melko yleistä lymfaattisissa leukemioissa. (Jain 1986, 196.)

Monosyytit ovat kooltaan 13–19 μm , ja keskikoko on noin 16 μm . Tuman muoto vaihtelee pyöreästä kierteiseen muotoon. Kierteinen muoto on yleisempi. Kromatiini on yleensä epäselvä ja näyttää ohuelta, ja siinä voi olla tummempia läis-

kiä. Sytoplasma on hieman tummempaa kuin lymfosyyteillä, ja siinä esiintyy enemmän granulaa. (Jain 1986, 196.)

Basofiilien koko vaihtelee 11–14 µm:n välillä. Yleisesti katsottuna solu näyttää tiiviiltä. Tummaksi värjäytyneet rakeiset granulat peittävät tuman melkein kokonaan eikä tuman muotoa ole helposti nähtävissä. Basofiilit ovat harvinaisia naudan perifeerisessä veressä. (Jain 1986, 196.)

5.6 Viitearvot

Viitearvot kuvastavat niin sanottuja normaaliarvoja eli ne rajat, joiden sisällä tulos on normaali. Normaali-termiä ei käytetä ammattikielessä, koska ei ole mitään selvää rajaa sille, mikä on normaalia ja mikä ei. Viitearvot saadaan tutkimalla riittävän laaja joukko terveitä yksilöitä. (Duodecim 2012.) Hevosen, kanan kissan, koiran ja naudan verisolujen määrille on omat viitearvot (liite 2).

Eläinten verinäytteet olisi hyvä ottaa niin, että näytteenotto häiritsisi eläintä mahdollisimman vähän. Eläimen stressitila, jännitys ja ahdistus näytteenottohetkellä vaikuttavat saatuihin veriarvoihin. Esimerkiksi koirien ja kissojen stressi ja kiihtyminen aiheuttavat fysiologista leukosytoosia verinäytteissä, joka helposti tulkitaan patologiseksi. (Happonen ym. 2001, 8–9.)

6 Ohjekansio oppimisen tueksi

Hyvän ja toimivan ohjekansion ulkoasu kannustaa lukijaa lukemaan ohjetta ja auttaa asiasisällön ymmärrettävyydessä. Tarkoituksena on kohdentaa ohjekansio juuri tietyille ryhmälle, että se tehostaisi mahdollisimman hyvin oppimisprosessia. Laadukkaan ohjeen perustana ovat taitto eli teksti ja kuinka kuvat on aseteltu paperille. Tyhjän tilan käyttämisestä ei tarvitse varoa, sillä ilmavuus lisää ohjeen selkeyttä. Ohjeen taiton suunnittelu aloitetaan asettelumallista, jonka kautta ohjeelle asetetaan ohjeen elementit, otsikot, tekstit, kuvat sekä se, kuin-

ka ne asetellaan paikoilleen. Asetusmallia käytetään ohjeen perustana ja sen pohjalta valitaan ohjeen kirjasintyypit ja -koko, riviväli, rivien suljenta, palstamäärä, marginaalien ja tekstin korostus. (Torkkola, Heikkinen & Tiainen 2002, 53–58.)

Pääotsikon ja sivuotsikoiden tulee kertoa oppimateriaalin aihe selkeästi ja mielenkiintoisesti. Hyvä luettavuus on oppimateriaalissa olennaista. Hyvän ohjekansio ilmaisutavan perustana ovat hyvä yleiskieli ja asiatyylin hallinta, samalla huomioonottaen kenelle ohje on tarkoitettu. Ohjeen tekstin voi jakaa useampaan palstaan. (Torkkola ym. 2002, 53–58.) Kirjoituksen tarkoitus on olla lukijalleen luettava, ymmärrettävä ja sellainen, että keskeiset asiat jäävät tekstistä mieleen. Hyvän asiatyylin piirteitä ovat tekstin sujuva eteneminen, selvä, havainnollinen, tiivis ja kieliopillisesti ja kieliteknisesti asianmukainen ilmaisu. (Hirsjärvi, Remes & Sajavaara, 2009, 273–274.) Eläinlääkäriopiskelijoille suunnatun ohjekansion sisällön täytyy olla asiantuntevaa ja hyvän tieteellisen käytännön mukaista (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002, 3).

Kuva on erinomainen havainnollistamisväline. Tekstiä täydentävät ja selittävät kuvat herättävät mielenkiintoa ja auttavat sisällön luettavuudessa sekä ymmärrettävyydessä. Hyvä sommittelu tekee oppimateriaalista mielekkäämpää katsottavaa ja luettavaa. Käytössä olevista kuvista kannattaa ottaa mahdollisimman paljon irti. Kuvatekstit nimeävät kuvan ja voivat kertoa kuvasta sellaista, mitä ei suoraan voi nähdä. (Torkkola ym. 2002, 40.)

7 Opinnäytetyön tarkoitus

Opinnäytetyön tarkoituksena on tuottaa Helsingin yliopiston Eläinlääketieteellisten biotieteiden osaston eläinlääkäriopiskelijoille ohjekansio, joka käsittelee eläinten sivelyvalmisteen tekoa, värjäämistä ja mikroskopiointia. Ohjekansio sisältää myös viiden yleisen kotieläimen normaalit kypsät valkosolut kuvina, sekä selkeät pääpiirteet solujen morfologiasta ja eroavaisuuksista. Ohjekansion tarkoituksena on olla tukena opiskelijoille solujen tunnistamisessa.

8 Opinnäytetyön menetelmällinen valinta

Tämän toiminnallisen opinnäytetyön tarkoituksena on osoittaa, että sen tekijä osaa ammatillisesti yhdistää käytäntöä ja teoriaa. Toiminnallinen opinnäytetyö pyrkii ammatillisessa ympäristössä ohjeistamaan, opastamaan toiminnan järjestämistä tai järkeistämään käytännön toimintaa. Sen lopputuotteena syntyy muun muassa ohje, opas, opastus, kirja, kansio, kotisivut tai tapahtuma eli se on jokin konkreettinen tuote. Ammattikorkeakoulun toiminnallisessa opinnäytetyössä yhdistyvät teoria, tutkiminen, toiminnallinen toteutus ja sen raportointi. Toiminnallisen opinnäytetyön tarkoituksena on osoittaa, että sen tekijä osaa ammatillisesti yhdistää käytäntöä ja teoriaa. Työelämästä saatu toimeksianto opinnäytetyöhön antaa hyvät lähtökohdat ammatilliselle kasvulle ja kehitykselle. Opinnäytetöprosessissa pääsee itsenäisesti ratkaisemaan työelämälähtöisiä ja käytännönläheisiä ongelmia. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 9–10, 17.) Tässä toiminnallisessa opinnäytetyössä lopputuotteena syntyy ohjekansio eläinsolujen tunnistamiseksi.

Toiminnallisessa opinnäytetyössä ei käsitellä tutkimuskysymyksiä tai tutkimusongelmaa. Toimintasuunnitelmavaiheessa on kuitenkin hyvä tehdä kysymyksiä, jotta suunnitelma täsmentää työn ja tekemisen tarkoituksen. Toiminnallisessa opinnäytetyössä ovat tärkeitä tietoperusta ja teoreettinen viitekehys. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 30.)

Toiminnallisen opinnäytetyön lopputuote (tapahtuma, opas, kirja, oheistus) tehdään aina jollekin tai jonkin tahon käytettäväksi. Toiminnallisen opinnäytetyön pyrkimyksenä on kohderyhmän osallistuminen toimintaan tai tapahtumaan. Ohjeistuksen tai oppaan avulla voi selkeyttää toimintaa. Olennaista on pohtia, mikä on ongelmana ja ketä tämä ongelma koskee. Kohderyhmän tarkka profiloiminen on tärkeää, koska lopputuotteen sisällön ratkaisee, minkälaiselle ryhmälle opinnäytetyö on ajateltu tehtäväksi. Opinnäytetyön toteutustapaa valittaessa pitää miettiä, missä muodossa idea kannattaisi toteuttaa parhaan lopputuloksen saavuttamiseksi. Näin lopputuote olisi eniten hyödyksi kohderyhmälle. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 30, 40, 51.)

Toiminnallisen opinnäytetyön raportoinnin on toteutettava tutkimusviestinnän vaatimukset. Opinnäytetyön tekstistä tulee selvittää mitä, miksi ja miten se on tehty. Opinnäytetyön tekstissä kuvataan työn prosessi, eteneminen, millaisia tuloksia saatiin ja mihin johtopäätöksiin päädyttiin. Tutkimusviestinnän tekstin tunnusmerkkejä ovat lähteiden käyttö ja niiden merkinnät, viitekehyksen tai teoria-tiedon tarkat käsitteet ja termit. Väitteet, valinnat, ratkaisut ja teorian tiedon luotettavuus täytyy perustella hyvin. Tekstin asiatyylit, sanavalinnat ja johdonmukaisuus antavat yhtenäisen ja johdonmukaisen kehyksen lukijalleen. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 65.)

Ohjekansion lähdekritiikki on tärkeässä asemassa. On harkittava, mistä tiedot hankitaan (kirjallisuus, tutkimukset, Internet, lehdet, lait ja asetukset) ja kuvailtava käytettyjen tietojen oikeellisuus ja luotettavuus. Lähdeaineistoa arvioidaan sen auktoriteetin ja tunnettavuuden pohjalta, sekä aineiston iän ja laadun mukaan (Vilkkä & Airaksinen 2003, 53, 72.)

9 Opinnäytetyöprosessi

Tämän toiminnallisen opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä ohjekansio, jossa on kirjalliset ohjeet sivelyvalmisteen tekemisestä ja käsin värjäämisestä Hemacolor-kitillä sekä mikroskoppoinnista ja öljyimersion käytöstä. Ohjekansioon kuvattiin myös viiden yleisen kotieläimen normaalit kypsät valkosolut sekä teoriaosuudet solujen morfologiasta ja eroavaisuuksista. Eläinlääkäriopiskelijoille suunnatun ohjekansion tarkoitus on toimia osana Terve kotieläin -jakson opintomateriaalia, ja sen tarkoituksena on olla tukena opiskelijoille solujen tunnistamisessa. Opinnäytetyön tuotoksena syntynyttä ohjekansiota on myös lupa käyttää Helsingin yliopistollisen eläinsairaalan klinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen opetuksessa.

9.1 Alkukartoitus

Kesällä 2011 toimeksiantajalta kysyttiin mahdollista aihetta opinnäytetyöhön. Fysiologian oppiaineen opetushenkilöstö koki tarvetta Terve kotieläin -jakson verisoluja käsittelevään oppimateriaaliin päivittämiseen, etenkin eläinten verisolukuvien osalta. Perifeerisen veren morfologiseen tutkimiseen valittiin yleisimmin tutkittuja eläimiä: hevonen, kissa, koira ja nauta sekä kana, joka poikkeaa punasolumorfologialtaan huomattavasti muista lajeista. Eläinlajien valintaan vaikutti myös se, minkä eläinlajin verta oli helposti saatavilla. Aihe rajattiin kyseisten eläinten normaaleihin kypsiin verisoluihin. Ohjekansion sisältö rajattiin yhdessä toimeksiantajan kanssa verisivelylvalmisteen tekemisestä sivelylvalmisteen morfologiseen tutkimiseen. Jos ohjekansio olisi käsitelty myös verisolujen morfologisia muutoksia, työstä olisi tullut liian laaja. Toimeksiantaja lupautui toimimaan opinnäytetyölle asiantuntija-apuna sekä asiasisällön että otettujen solukuvien oikeellisuuden tarkastajana. Toimeksiantosopimus tehtiin keväällä 2012 (liite 1).

Yhteistyökumppaneina opinnäytetyössä toimii Helsingin yliopistollisen eläinsairaalan klinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osaston henkilökuntaa: osaston johtaja ja keskuslaboratorion tutkimusteknikko. Heidän avustuksellaan saatiin tarvittavat verinäytteet, niistä valmistetut ja valmiiksi värjätyt sivelynäytteet. Keskuslaboratorion tutkimusteknikko tarkasti toimeksiantajan lisäksi kuvattujen solukuvien oikeellisuuden.

Aikaisemmat eläinlääkäriopiskelijat ovat kokeneet valkosolujen differentiaalilaskennan haasteelliseksi, koska he tunnistavat ensimmäistä kertaa veren soluja ja tarjolla oleva opintomateriaali on ollut puutteellista. Ohjekansion tarkoituksena on opastaa, miten kyseinen tutkimusprosessi etenee. Näin kurssityötä olisi mahdollisuus tehdä mahdollisimman itsenäisesti. Opiskelijat saavat lisäoppia veren sivelylvalmisteen tekoon, mikroskoppointiin ja solujen tunnistamiseen tämänkin kurssin jälkeen klinikkaharjoitteluvuotena eläinsairaalan puolella. Eläinsairaalan opetushenkilöstö on kuitenkin kokenut hyvänä Terve kotieläin -jakson käytäntöä tukevat laboratoriotunnit.

9.2 Toimintaympäristö ja kohderyhmä

Opinnäytetyön toiminnallinen osuus eli solujen kuvaaminen tehtiin Helsingin yliopiston tiloissa, Eläinlääketieteellisten biotieteiden osaston laboratoriossa Viikissä. EBIO:n osasto koostuu seuraavista ryhmistä: anatomia, biokemia, fysiologia, mikrobiologia ja solu- ja molekyylibiologia sekä epidemiologia, molekyyli-genetiikka ja patologia ja parasitologia (Helsingin yliopisto 2006b).

Opinnäytetyön lopputuotteena syntynyt ohjekansio on tarkoitettu eläinlääkäriopiskelijoille helpottamaan eri eläinlajien verisolujen tunnistusta. Terve kotieläin -jakson kurssitöissä opiskelijoita on paikalla noin 36, ja näin ollen esimerkiksi solujen tunnistusvaiheessa ei ole resursseja tarjota kaikille opiskelijoille henkilökohtaista ohjausta. Ohjekansio on myös apuna Verisolu -jakson tunteja opettaville assistenteille ja tekniselle henkilökunnalle.

9.3 Ohjekansion kokoaminen

Tämän toiminnallisen opinnäytetyön tuotoksena tehtiin alkukartoituksen perusteella ohjekansio eläinten perifeeristen verisolujen tutkimiseen. Ohjekansion sisältöä ja rakennetta mietittiin yhdessä toimeksiantajan kanssa. Ohjekansion sisällön ja ulkonäön suunnittelua varten pidettiin kokouksia sekä fysiologian lehtorin että laboratoriomestarin kanssa. Yhteyttä pidettiin myös puhelimitse ja sähköpostitse. Yhteisten keskustelujen pohjalta selvitettiin lähtökohtia, joiden avulla ohjekansiota rajattiin ja asetettiin sille tavoitteet. Ohjekansiota suunniteltaessa tutustuttiin vanhoihin opintomateriaaleihin, joita oli käytetty jo useita vuosia Terve kotieläin -jaksolla.

Opinnäytetyöhön ja ohjekansioon kerättiin teoreettista tietoa verenkuvatutkimuksesta eläimiltä, verisoluista yleisellä tasolla ja lajijominaisista normaaleista verisoluista sekä opinnäytetyöprosessiin ja ohjekansion tekemiseen liittyvistä asioista. Tiedot kerättiin suomen- ja englanninkielisistä kirjoista, Internet-sivuilta sekä haastatteluna Helsingin yliopistollisen eläinsairaalan klinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osaston johtajalta ja keskuslaboratorion tutkimusteknikol-

ta. Eläimistä kertova kirjallisuus oli englanninkielistä, ja teoreettisen tiedon saatavuus eläinten verenkuvatutkimuksista on rajattua.

Ohjekansiota varten tarvittiin valokuvia hevosen, kanan, kissan, koiran ja naudan normaaleista kypsistä valkosoluista. Kuvat otettiin Helsingin yliopiston tiloissa, EBIO:n laboratoriossa Viikissä, toimeksiantajan luvalla. Valmiiksi värjätyt sivelyvalmisteet saatiin Helsingin yliopistollisen eläinsairaalan klinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osaston henkilökunnalta. Ohjekansion verisolukuvien arvioimiseen ja tunnistamiseen käytettiin Leica DM4000B -mikroskooppia. Mikroskooppiin on liitetty Olympuksen DP70 SIS Colorview 12 -digikamera ja Olympus Cell-P -kuvausohjelmisto (versio 3.0), joiden avulla solut oli mahdollista kuvata ja tallentaa. Solut etsittiin lasilta 40-kertaisella suurennoksella ja solujen kuvaus tehtiin 100-kertaisella (immersioöljy) suurennoksella. Kuvattujen solujen oikeellisuus tarkistutettiin toimeksiantajalla ja eläinsairaalan keskuslaboratorion tutkimusteknikolla. Toimeksiantaja valitsi ohjekansioon selkeimmät ja edustavimmat solukuvat. Naudan basofiilit ovat harvinaisia naudan perifeerisessä veressä, niitä esiintyy vain 0–2 prosenttia. Työssä käytetyissä naudan sivelyvalmisteista ei löytynyt basofiilejä, joten siitä ei saatu solukuvaa ohjekansioon. Toimeksiantaja voi lisätä myöhemmin naudan basofiilin ohjekansioon. Solukuvat tallennettiin kuvauksessa käytetylle tietokoneelle ja muistitikulle. Opinnäytetyön ja ohjekansion kuvat sivelyvalmisteen tekemisestä ja tutkimisesta on piirtänyt graafinen suunnittelija opinnäytetyön tekijöiden suunnitelman mukaisesti.

Ohjekansion ulkoasuna käytetään pystysuoria A4-kokoisia sivuja. Ohjekansion sivut olisi hyvä koota muovitaskuihin, mikä pidentää niiden käyttöikää. Värillisten solukuvien tulostaminen ohjekansioon helpottaa ja selkeyttää huomattavasti solujen morfologian tunnistamista.

Ohjekansion verisolukuvien ja tekstien toimivuutta pohdittiin käytännöllisyyden pohjalta. Solukuvat ja niihin viittaavat tekstit pidettiin samalla aukeamalla eläin-kohtaisesti, jotta ne yhdessä olisivat selkeästi ja helposti tulkittavissa. Solukuvat haluttiin esittää mahdollisimman isokokoisina, jotta solujen morfologia näkyisi selkeästi. Ohjekansio kirjoitettiin Microsoft Windows 2007 -versiolla. Ohjekansion kirjasinlaji oli Arial. Leipäteksti oli kirjasinkoolla 12, otsikot 14:llä ja 12:lla.

Ohjekansiossa käytettiin riviväliä 1, 1,15 ja 1,5. Riviväliä 1 ja 1,15 käytettiin joissakin kohdissa siksi, että tietty aihe-aihe saatiin mahtumaan samalle sivulle. Ohjekansiossa käytettiin tekstin lihavoitua merkityksellisten sanojen korostamiseen. Toimeksiantajan toiveesta ohjekansion etukannen otsikko keskitettiin ja sisällysluettelon rivivälinä oli 2.

Ohjekansion teoriaosuus ja eläinten solukuvat sekä muut kuvat yhdistettiin yhtenäiseksi kokonaisuudeksi. Ohjekansio lähetettiin sähköpostitse toimeksiantajalle ja verikurssilla työskentelevälle laboratoriomestarille luettavaksi ja tarkastettavaksi. Työstä saatiin palautetta ja korjausehdotuksia ohjekansion sisällöstä ja rakenteesta edellä mainituilta henkilöiltä sekä vuonna 2011 valmistuneelta bioanalyttikko-opiskelijalta. Toimeksiantajalla on lupa tehdä ohjekansioon päivityksiä.

9.4 Ohjekansion rakenne

Ohjekansion rakennetta tehdessä pyrittiin huomioimaan asioiden looginen eteneminen ja ulkoasun selkeys sekä helppolukuisuus. Työn alkuun tehtiin sisällysluettelo, jotta sitä olisi helppo käyttää. Kansion alussa on johdanto, joka kertoo lukijalle, miksi ja mihin tarkoitukseen ohje on tehty. Johdannon jälkeen ohjekansioon on koottu asiat niiden tekojärjestyksessä: sivelyvalmisteen tekeminen ja käsinvärjäys, sivelyvalmisteen mikroskopointi ja öljyimmersion käyttö. Seuraavaksi ohjekansioon on koottu eläinten lajiominaiset normaalit verisolut, valkosolut kuvineen ja lopuksi jokaisen eläimen viitearvot lajikohtaisesti.

Eläinkohtaisien solukuvien yhteydessä oleva teoriaosuus käsitteli vain solujen tunnistamisen pääkohdat. Tämän osuuden jälkeen oli jokaiselle eläimelle oma teoriakatsaus syvällisemmällä tasolla. Ohjekansiossa käytetyt lähteet ovat lähdeluettelona kansion lopussa. Viittaukset tekstistä päätettiin jättää pois, jotta ohjekansiota olisi helppo lukea ja sen rakenne säilyisi selkeänä.

10 Pohdinta

Bioanalyttikko voi työskennellä laaja-alaisen koulutuksen saaneena erilaisissa laboratorioissa sekä toimia asiantuntijaroolissa esimerkiksi opetustehtävissä. Bioanalyttikko voi terveysalan laboratorioalan ammattilaisena olla töissä myös tutkimuksessa, jossa näyttemateriaalit ovat muita kuin humaaninäytteitä. Työnantajana voivat olla muun muassa pien- tai suuroläinlinikat, tutkimuslaboratoriot tai eläinlaboratoriot. Bioanalyttikko voi toimia myös asiantuntijana esimerkiksi opetustehtävissä. Tähän antaa hyvän lähtökohdan bioanalyttikon laaja-alainen koulutus. Bioanalyttikon valmiuksiin kuuluu myös ohjekansion laatiminen. Ohjekansion sisällöllistä toimivuutta ja rakennetta suunniteltiin toimeksiantajan kanssa puhelimitse ja sähköpostitse. Opinnäytetyöprosessin aikana opiskelijat harjoittelivat yhteistyötaitoja muiden ammattiryhmien kanssa.

Haastetta opinnäytetyöhön toi tutkimuksen aihe, koska ihmistutkimuksen sijaan tutkimus käsitteli eläimiä. Obitun tiedon soveltaminen oli tärkeässä osassa koko prosessin ajan. Aihe oli kuitenkin inspiroiva ja mielenkiintoinen haasteista huolimatta. Eläimiin liittyvää lähdemateriaalia oli vaikea löytää. Kirjallisuutta saatiin lainattua Helsingin yliopiston tiedekirjastosta, Helsingin yliopistollisen eläinsairaalan klinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osaston johtajalta sekä EBIO:n käsikirjastoista. Eläimistä tuotettua kirjallisuutta löytyy vähän ja julkaistaan harvemmin kuin ihmisten lääketieteen vastaavia teoksia.

Toimeksiantajan palautteessa ohjekansio oli kokonaisuudessaan helppolukuisen ja selkeä. Kuvat olivat hyvälaatuisia ja huolella valittuja. Sisällysluettelon avulla tarvittavat tiedot löytyivät vaivatta ja selkeän jäsentelyn ja sivujaon ansiosta kansiota oli helppo käyttää ja monistaa tarvittaessa osina. Toimeksiantaja oli tyytyväinen ohjekansion palautustapaan sähköisenä tiedostona. Tarvittaessa päivityksiä ja tarkennuksia voi lisätä opiskelijoilta ja muilta opettajilta saadun palautteen perusteella. (Ahde 2012; Koho 2012.) Ohjekansion toteutus onnistui hyvin yhteistyössä toimeksiantajan ja opinnäytetyön tekijöiden välillä pitkästä välimatkasta huolimatta. Kuvat verisoluista saatiin aseteltua eläinlajeittain selkeiksi kokonaisuuksiksi, joka helpottaa eläinten verisolujen tunnistamista.

Ohjekansioista olisi tärkeää saada palautetta myös eläinlääkäriopiskelijoilta. Näin ohjekansioista saataisiin selkeä ja toimiva kokonaisuus. Opiskelijoille tehtiin palautelomake avoimilla kysymyksillä, joten kysymyksiin on mahdollisuus vastata omin sanoin. Seuraava Terve kotieläin -jakso alkaa joulukuussa 2012, joten opinnäytetyöhön ei ollut mahdollisuutta kerätä palautteesta saatuja vastauksia. Koska ohjekansio on osoitettu toimeksiantajan ja eläinsairaalan opetuksen apuvälineeksi, ohjekansion sisällöllistä toimivuutta voidaan muokata saadun palautteen perusteella. Valmista ohjekansiota ei julkaista tekijänoikeuksien suojaamiseksi, se on tarkoitettu vain eläinlääketieteellisen tiedekunnan ja Helsingin yliopistollisen eläinsairaalan käyttöön.

10.1 Tutkimuksen luotettavuus

Luotettavuuden arviointi on olennainen osa tieteellistä tutkimusta. Tutkimuksen luotettavuudelle on asetettu normeja ja arvoja, joita tulisi noudattaa. (Eskola & Suoranta 1998, 211.) Tieteellisen tutkimustyön luotettavuuden edellytyksenä on se, että tutkimus suoritetaan hyvän tieteellisen käytännön mukaisesti. Tähän käytäntöön kuuluvat rehellisyys, yleinen huolellisuus ja tarkkuus tutkimusprosessin jokaisessa vaiheessa. Tutkimuksen luotettavuutta lisäävät tutkimuksen suunnittelu, toteutus ja sen yksityiskohtainen raportointi. (Tutkimuseettinen neuvottelukunta 2002, 3.)

Toiminnallisen opinnäytetyön lopputuotoksena syntyneen ohjekansion tarkoitus on olla tukena opiskelijoille solujen tunnistamisessa. Ohjekansiota tehtäessä lähdekritiikki on tärkeässä osassa. Lähteitä on käytettävä harkiten, ja niihin tulee suhtautua kriittisesti. Lähdeaineistoja ja niiden luotettavuutta pitää tarkastella jo ennen niihin perehtymistä. Lähteen ikä, laatu ja uskottavuuden aste, tekijä ja tiedonlähteen auktoriteetti sekä tunnettavuus ovat yleensä hyviä kriteerejä lähteiden valintaan. Lisäksi olisi suotavaa käyttää alkuperäisiä julkaisuja eli ensisijaisia lähteitä. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 72–73.) Jotkin opinnäytetyössä käytetyt lähdekirjallisuuksien julkaisuvuodet olivat vanhoja. Eläimistä tuotettua kirjallisuutta löytyy niukasti, ja sitä julkaistaan vähemmän kuin ihmisten lääketieteen vastaavia teoksia (Sankari 2012). Lähteitä arvioitiin kriittisesti ja niiden

käyttöä perusteltiin sillä, että eläinten verisolujen teoria, tutkimus ja mikroskoopiointi eivät ole muuttuneet vuosien aikana. Käyttöä voi perustella sillä, että samat lähdekirjat ovat käytössä Helsingin yliopiston eläinlääketieteellisten biotieteiden osastolla ja eläinsairaalassa, sekä näitä samoja lähteitä on käytetty myös uudempien kirjojen lähteinä.

Tutkimuksen luotettavuuskriteereinä voidaan käyttää uskottavuutta, siirrettävyyttä, varmuutta ja vahvistuvuutta. Uskottavuutta varmistaa se, että tutkija tarkistaa, että hänen omat tulkintansa ja käsitteellisyytensä vastaavat tutkittavien mielipiteitä. (Eskola & Suoranta 1998, 212–213.) Tässä opinnäytetyössä luotettavuutta pyrittiin vahvistamaan jo suunnitteluvaiheessa, jolloin tavoitteet määriteltiin mahdollisimman tarkasti. Teoreettisessa viitekehyksessä pyrittiin käsittelemään kaikki tutkimuksen kannalta olennaiset asiat: eläinlääkärin koulutus, verenkuvatutkimuksen indikaatiot ja tutkimusmenetelmät, verisolujen tehtävät, lajijominaiset verisolut lajeittain ja ohjekansio eläinten verisolujen tutkimiseen.

Siirrettävyys luotettavuuden kriteerinä viittaa siihen, että tutkimuksen tulokset ovat siirrettävissä toiseen vastaavaan asiayhteyteen. Tutkimukseen saavutetaan varmuutta ottamalla huomioon mahdolliset tutkimukseen vaikuttavat ennakkoehdot. (Vilkkä & Airaksinen 2003, 67.) Jotta kaikki luotettavuuskriteerit täyttyisivät, tutkimuksen joka vaiheesta on tehtävä huolellinen raportti. Lukijalla on oltava mahdollisuus seurata tutkimuksen kulkua ja arvioida sen luotettavuutta. (Eskola & Suoranta 1998, 212–213.) Opinnäytetyöstä pyrittiin kirjoittamaan selkeä ja kattava, jotta lukija pystyy hahmottamaan opinnäytetyöprosessin eri vaiheet. Raportin perusteella voidaan tuottaa vastaavanlainen tuotos muissa olosuhteissa. Vahvistuvuus tarkoittaa sitä, että tutkimuksessa tehdyt tulkinnot ja tulokset saavat tukea samankaltaisista tutkimuksista. Opinnäytetyön teorian vahvistuvuutta lisäsi, että samoja asioita löytyi useista eri lähteistä ja niitä vertailtiin keskenään.

Yksi keskeisin tieteellisen vilpin muoto on plagiointi eli toisen kirjoittajan tekstin varastaminen. Plagiointi on toimintaa, jossa esitetään toisen kirjoittajan teksti, artikkeli, ideat tai sanamuodot ominaan. (Hirsjärvi ym. 2009, 23.) Opinnäytetyön teksteihin on lisätty tarkat lähdeviittaukset ja lähteet. Näin osoitetaan, ettei käy-

tettyjä tietoja ja tekstejä ole plagioitu. Lähdetietojen ymmärrettävyys vaikuttaa opinnäytetyössä luotuun asiasisältöön. Eläinten verisolujen teoriaisuus on englanninkielisestä lähdekirjallisuudesta ja eläinlääketieteellisistä julkaisuista. Käytetyt Internet-lähteet ovat yliopistojen omia sivuja tai muita tunnettuja, paljon käytettyjä tieteellisiä sivustoja. Toimeksiantaja tarkasti tuotetun tiedon toimissaan työssä asiantuntija-apuna. Näin varmistettiin kirjoitetun tiedon oikeellisuus.

Ohjekansiossa olevien solukuvien oikeellisuus on olennaista opinnäytetyön luotettavuuden kannalta. Kaikki solukuvat ovat opinnäytetyön tekijöiden itsensä kuvaamia. Opinnäytetyön tekijät saivat kuvantamislaitteiston vastuuhenkilön opastusta ja apua mikroskoopin, kameran sekä tietokoneen kuvantamisohjelman oikeaoppiseen käyttöön. Solukuvien kokoa on pienennetty ohjekansioon sopivaksi, mutta kuvissa olevien verisolujen mittasuhteet pidettiin alkuperäisinä. Eläinten solukuvien oikeellisuuden tarkastivat sekä toimeksiantaja että Eläinsairaalan keskuslaboratorion laboratorioteknikko, mikä lisää työn luotettavuutta.

10.2 Tutkimuksen eettisyys

Tutkimustyö sisältää monia eettisiä kysymyksiä, joiden vastauksista tutkija on itse vastuussa. Kun tutkija ymmärtää eettisten kysymysten ongelmat, hän tekee ilmeisesti myös eettisesti objektiivista tutkimusta. (Eskola & Suoranta 1998, 52.) Tiedonhankintaan, arviointiin ja tiedon kirjoittamiseen sisältyvät tutkimuseettiset periaatteet ovat yleisesti hyväksytyjä. Jokaisen tutkijan velvollisuus on tuntea nämä periaatteet ja arvot sekä toimia niiden mukaisesti. Eettisesti hyvä tutkimus edellyttää myös sen, että tutkimusta tehtäessä noudatetaan hyvää tieteellistä käytäntöä. (Hirsjärvi ym. 2009, 23.)

Epärehellisyyttä on varottava kaikissa tutkimusprosessin vaiheissa. Tutkimustekstin ja -tulosten vääristely on tieteellistä vilppiä. Tätä kutsutaan niin sanotusti tieteelliseksi harhauttamiseksi. Raportoinnissa on oltava tarkka, huolellinen ja rehellinen, ettei alkuperäinen havainnointi vääristy. Raportoinnin tahallinen muokkaaminen ja kaunisteleminen niin, että tutkimus näyttäisi sopivammalta,

on eettisesti väärin. Tutkimusta tehdessä esille tulleet puutteet on myös tuotava ilmi. (Hirsjärvi ym. 2009, 25–26.)

Jokainen neulanpistoa ja sitä enemmän aiheuttava kipu, tuska, kärsimys tai pysyvä haitta eläimelle vaatii koe-eläinlupan (Laki koe-eläintoiminnasta 62/2006, 4.§). Opinnäytetyössä käytetyt eläinten verinäytteet oli otettu potilasverinäytteistä eli niille ei tarvinnut koe-eläinlupaa. Eläimet, joiden verinäytteitä käytettiin opinnäytetyön tutkimustyöhön, olivat muista syistä tulleet tutkimuksiin eli tätä työtä varten ei tarvinnut pistää yhtään eläintä turhaan.

Eläinten perifeeristen verisolujen tutkiminen opinnäytetyön aiheena on eettisesti hyväksyttävä tutkimusaihe. Opinnäytetyön aihe ei loukannut eikä aiheuttanut kenellekään vahinkoa, koska läpi työn noudatettiin hyvää tutkimuseettistä käytäntöä. Eläinlääkäreille suunnattu ohjekansio on eettisesti hyväksyttävä tutkimusaihe, sillä sen tarkoitus on helpottaa ja olla tukena opiskelijoille eläinten verisolujen tunnistamisessa sekä helpottaa verikurssin opetushenkilökuntaa työympäristössä, jossa opiskelijamäärät ovat suuria. Muiden tutkijoiden tekemää työtä ei ole vääristelty opinnäytetyön teoriaosuuksissa, asiat on esitetty rehellisesti ja asianmukaisesti. Opinnäytetyön tekijät eivät olleet mukana eläinten verinäytteiden otossa, joten solukuvien eläinten tunnistaminen ei ole mahdollista opinnäytetyön pohjalta. Eettisesti on erittäin tärkeää, että opinnäytetyön solukuvat ovat laadukkaita, luotettavia ja ne on esitetty oikein. Eläinlääkäriopiskelijoille suunnatussa ohjekansiossa eläinten verisolukuvia ei ole muokattu näyttämään paremmilta tai sopivimmalta kuvien rakenteita vääristelemällä.

10.3 Jatkotutkimusaiheet

Ohjekansion jatkotutkimusaiheena voisi olla hyvä lähteä syventämään terveiden verisolujen morfologiasta solujen patologiisiin muutoksiin. Tutkimuksessa voisi selvittää kunkin opinnäytetyössä käsitellyn eläinlajin yleisimpiä sairauksia ja niiden vaikutuksista verisoluihin. Mielenkiintoinen jatkotutkimusaihe olisi tutkia esimerkiksi matelijoiden ja kalojen verisolujen morfologiaa.

Lähteet

- Ahde, K. Palaute ohjekansiosta. Email kirsi.ahde@helsinki.fi. 24.10.2012
- Asikainen, J. 2012. Kuvat 1 ja 2: Sivelyvalmisteen teko ja sivelyvalmisteen tutkiminen. Mukailen Kekkonen & Tonteri 2012.
- Aspinal, V. 2003. Clinical Procedures in Veterinary Nursing. Philadelphia: Elsevier Limited.
- Bain, B.J. & Lewis, S.M. 2012. Preparation and staining methods for blood and bone marrow films. Teoksessa Lewis, S.M., Bain, B.J., Bates, I. (toim.) Dacie and Lewis Practical haematology. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone.
- Bjålie, J.G., Haug, E., Sand, O., Sjaastad, Ø.V. & Toverud, K.C. 2009. Ihminen – Fysiologia ja anatomia. Helsinki: WSOY.
- Cowell, R.L., Tyler, R.D. & Meinkoth, J.H. 2002. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. Missouri: Mosby Inc.
- Cowell, R.L., Tyler, R.D., Meinkoth, J.H. & DeNicola D. B. 2008. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. Missouri: Mosby Inc.
- Duodecim. 2012. Terveyskirjasto. Hae terveyskirjastosta. Viitearvo. Hae. Laboratoriotutkimusten tulkinta. Mitä tarkoittaa viitearvo. http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk02060&p_haku=viitearvo. 21.6.2012.
- Ek, A. 2009. Verisolujen tunnistusaapinen. Kankaanpää: Messon.
- Eläinlaboratorio Vetlab. 2012. Laboratoriokäsikirja 2012. Vetlab Oy. http://www.vetlab.fi/SIRA_Files/downloads/laboratoriokasikirja/Kasikirja_2012.pdf. 21.6.2012.
- Eskola, J. & Suoranta, J. 1998. Johdatus laadulliseen tutkimukseen. Tampere: Vastapaino.
- Feldman B.F., Zinkl J.G. & Jain N.C. 2000. Schalm's Veterinary Hematology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Happonen, I., Järvinen, A.-K., Ranta, M. & Järvinen, M. 2001. Eläinlääketieteellisiä laboratoriomenetelmiä. Helsinki: Helsingin Yliopisto.
- Harvey, J. W. 2001. Atlas of veterinary hematology. Blood and bone marrow of domestic animals. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Hawkey, C.M. & Dennet, T.B. 1989. A Colour Atlas of Comparative Veterinary Haematology. Normal and abnormal blood cells in Mammals, Birds and Reptiles. Ipswich: W.S. Cowell Ltd.
- Helsingin yliopisto. 2006a. Tiedekunnat, laitokset, erilliset laitokset ja muut yksiköt. Eläinlääketieteellinen tiedekunta. <http://www.vetmed.helsinki.fi/index.htm>. 8.9.2011.
- Helsingin yliopisto. 2006b. Tiedekunnat, laitokset, erilliset laitokset ja muut yksiköt. Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto. <http://www.vetmed.helsinki.fi/vetbio/index.htm>. 8.9.2011.
- Hirsjärvi, S., Remes, P. & Sajavaara, P. 2009. Tutki ja kirjoita. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.
- Hyvärinen, A., Jännes, J., Nikkilä, E., Saris, N.-E. & Vuopio, P. 1972. Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: Werner Söderström Osakeyhtiö.
- Jain, N.C. 1986. Shalm's Veterinary Hematology. Philadelphia: Lea & Febiger.
- Kekkonen, J. & Tonteri, K. 2012. Solukuvat eläinten verisoluista.
- Koho, N. 2012. Palaute ohjekansiosta. Email ninna.koho@helsinki.fi. 24.10.2012

- Koski, T. & Sinisalo, M. 2010. Tapausselostus. Mitä kertoo verenkuva? Lääkäri-lehti 65 (36), 2857–2859. <http://www.fi.mnet.fi/cgi-cug/brs/artikkeli.cgi?docn=000034502>. 23.6.2012.
- Laki koe-eläintoiminnasta 62/2006.
- Lane, D., Cooper, B. & Turner, L. 2007. BSAVA Textbook of Veterinary Nursing. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.
- Liinamaa M. 1989. Syventävien opintojen opintoprojekti. Luuydinaspiraatiobiopsia – Otto, käsittely ja tulkinnan perusteet. Eläinlääketieteellinen korkeakoulu. Sisätautiopin laitos.
- Mahlamäki, E.K. 2004. Veren kuvan tutkimukset. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY, 276–277.
- Niemelä, O. & Pulkki, K. (toim.) 2010. Laboratoriolääketiede – Kliininen kemia ja hematologia. Helsinki: Kandidaattikustannus Oy.
- Palva, I. & Vilpo J. (toim.) 2010. Veritaudit. Helsinki: Medivil Oy.
- Pelliniemi, T.-T. 1998. Veren Sivelyvalmiste. Duodecim. 114 (12), 1184.
- Penttilä I. 2003. Laboratoriotutkimukset. Porvoo: Werner Söderström Osakeyhtiö.
- Ranta, M. 2012. Tutkimusteknikko. Helsingin yliopisto. Eläinlääketieteellinen tiedekunta. Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto. Keskuslaboratorio. Haastattelu. 23.5.2012.
- Rizzi, T.E., Meinkoth, J.H. & Clinkenbeard, K.D. 2010. Normal Hematology of the dog. Teoksessa Weis, K. & Wardrop, K.J. Schalm's Veterinary Hematology. Iowa: Blackwell Publishing Ltd, 107.
- Rodak, B. 2002. Hematology – Clinical Principles and applications. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) 2007. Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Sankari S. 2012. Professori. Helsingin yliopisto. Eläinlääketieteellinen tiedekunta. Kliinisen hevos- ja pieneläinlääketieteen osasto. Haastattelu. 23.5.2012.
- Siitonen, S. & Jansson, S.-E. 2007. Morfologiset tutkimukset. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. Veritaudit. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 2, 109.
- Sjaastad, Ø.V. Sand, O. & Hove, K. 2010. Physiology of Domestic Animals. Oslo: Scandinavian Veterinary Press.
- Solunetti. 2006. Histologia. Leukosyytit. <http://www.solunetti.fi/fi/histologia/leukosyytit/>. 8.12.2011.
- Swenson, M. 1984. Dukes' Physiology of Domestic Animals. United Kingdom: Cornell University Press.
- Torkkola, S., Heikkinen, H. & Tiainen, S. 2002. Potilasohjeet ymmärrettäviksi. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.
- Tuokko, S., Rautajoki, A. & Lehto, L. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.
- Tutkimuseettinen neuvottelukunta. 2002. Hyvä tieteellinen käytäntö ja sen loukkausten käsitteleminen. http://www.tenk.fi/hyva_tieteellinen_kaytanto/Hyva_Tieteellinen_FI_N.pdf. 3.10.2012.

- Walker, D. 1999. Peripheral Blood Smears. Teoksessa Cowell, R.L., Tyler, R.D. & Meinkoth, J.H. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat. Missouri: Mosby Inc, 262, 395.
- Weiss, K. & Wardrop, K.J. 2001. Schalm's Veterinary Hematology. Iowa: Blackwell Publishing Ltd.
- Vilkka, H. & Airaksinen, T. 2003. Toiminnallinen opinnäytetyö. Helsinki: Kustannusosakeyhtiö Tammi.

Toimeksiantosopimus



OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIANTOSOPIMUS

Toimeksiantaja	
Organisaation nimi:	Helsingin Yliopisto, Eläinlääketieteellinen tiedekunta
Toimeksiantajan edustaja:	Ninna Koho
Osoite:	Agnes Sjöberginkatu 2 00014 Helsingin Yliopisto
Puhelinnumero:	0919157047
Sähköposti:	ninna.koho@helsinki.fi

Opiskelijan/opiskelijoiden tiedot	
Koulutusohjelma:	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Opiskelijanumero(t) ja nimi(et):	0901390 Jaana Kekkonen 0901387 Kaisa Tonteri
Puhelinnumerot:	045-3470073 (Jaana) 050-3612941 (Kaisa)
Sähköposti:	jaana.kekkonen@edu.pkamk.fi kaisa.tonteri@edu.pkamk.fi

Toimeksiantajan sitoumukset	
Toimeksiantaja tukee opiskelijaa opinnäytetyön suorittamisessa antamalla työn suorittamiseen tarvittavia tietoja ja sisäisiä aineistoja tarpeelliseksi katsomallaan tavalla. Toimeksiantaja vastaa opinnäytetyön määrällisestä tutkimuksesta aiheutuvista kustannuksista, joita ovat kopiointi- ja postituskulut.	

Opiskelijoiden sitoumukset	
Opiskelijat laativat toimeksiantajana määrällisen tutkimuksen toimeksiantajan käyttöön. Toimeksiantaja saa oikeudet käyttää tutkimussuunnitelmaa, tutkimusaineistoa ja sen tuloksia sisäisessä kehitystyössään. Lisäksi toimeksiantaja saa hyödyntää nyt tehtävää tutkimusta tilatessaan myöhemmin omaan käyttöönsä samansisältöisiä seurantatutkimuksia kolmannelta osapuolelta.	

Opinnäytetyön ohjaus PKAMK:ssa	
Ohjaaja(t):	Satu Martiskainen Elina Lyytikäinen

Opinnäytetyön julkisuus	
Opinnäytetyö on julkinen asiakirja ja se voidaan julkaista Theseus-verkkokirjastossa.	

Allekirjoitukset	
Päiväys	Opiskelijan allekirjoitus ja nimenselvennys
21.5.2012	Jaana Kekkonen Kaisa Tonteri
Päiväys	Toimeksiantajan edustajan allekirjoitus ja nimenselvennys
21.5.2012	Ninna Koho

Eläinten puna- ja valkosolujen viitearvot

Lähde: Mukailten Eläinlaboratorio Vetlab 2012.

HEVONEN	Yksikkö	Lämminveriset	Suomenhevoset
Leuk	10 E9/l	6,4 – 10,8	4,8 – 9,3
Hb	g/l	135 – 170	125 – 155
Hkr	%	36 – 46	34 – 42
Eryt	10 E12/l	8,1 – 10,5	7,2 – 8,7
MCH	pg	16 – 19	16 – 19
MCHC	g/l	345 – 430	345 – 430
MCV	fl	39 – 52	39 – 52
Trombosyytit	10 E9/l	80 – 500	80 – 500
	Diffi %	Diffi, valkosolujen totaolimäärät 10 E9/l	
Sauvatumaiset	0 – 1	0 – 0,1	
Liuskatumaiset	44 – 70	3,2 – 6,0	
Eosinofiilit	1 - 4	0,1 – 0,5	
Basofiilit	0 – 1	0 – 0,1	
Lymfosyytit	25 – 49	1,9 – 4,5	
Monosyytit	2 – 6	0,3 – 0,6	

KANA	Yksikkö	
Leuk	10 E9/l	12 – 30
Hb	g/l	70 – 130
Hkr	%	22 – 35
Eryt	10 E12/l	2,5 – 3,5
MCH	pg	33 – 47
MCHC	g/l	26 – 35
MCV	fl	90 – 140
Trombosyytit	10 E9/l	20 – 40
	Diffi %	Diffi, valkosolujen totaolimäärät 10 E9/l
Sauvatumaiset	harvinaisia	harvinaisia
Liuskatumaiset	15 – 40	3 - 6
Eosinofiilit	1,5 – 6,0	0 - 1
Basofiilit	harvinaisia	harvinaisia
Lymfosyytit	45 – 70	7 – 17,5
Monosyytit	5 – 10	0,15 - 2

KISSA	Yksikkö	
Leuk	10 E9/l	5,5 – 15,4
Hb	g/l	80 – 150
Hkr	%	26 – 46
Eryt	10 E12/l	5,5 – 10,0
MCH	pg	13,0 – 17,0
MCHC	g/l	300 – 360
MCV	fl	39 – 55
Trombosyytit	10 E9/l	150 – 600
	Diffi %	Diffi, valkosolujen totaolimäärät 10 E9/l
Sauvatumaiset	0 – 3	0 – 0,3
Liuskatumaiset	40 – 75	2,5 – 11,0
Eosinofiilit	2 – 10	0,1 – 0,7
Basofiilit	0 – 0,2	0 – 0,01
Lymfosyytit	15 – 52	1,5 – 6,5
Monosyytit	2 – 4	0,1 – 0,5

KOIRA	Yksikkö	
Leuk	10 E9/l	6,0 – 12,0
Hb	g/l	120 – 180
Hkr	%	37 – 55
Eryt	10 E12/l	5,5 – 8,5
MCH	pg	19,5 – 24,5
MCHC	g/l	320 – 360
MCV	fl	60 – 70
Trombosyytit	10 E9/l	150 – 500
	Diffi %	Diffi, valkosolujen totaolimäärät 10 E9/l
Sauvatumaiset	0 – 3	0 - 0,3
Liuskatumaiset	57 – 77	4,3 – 7,6
Eosinofiilit	1 – 8	0,2 - 0,8
Basofiilit	0 – 0,3	0 - 0,02
Lymfosyytit	13 – 31	1,1 – 3,0
Monosyytit	3 – 7	0,2 - 0,7

NAUTA	Yksikkö	
WBC totaali määrät	10 E9/l	4 – 12
Hb	g/l	80 – 160
Hkr	%	24 – 46
Eryt	10 E12/l	5 – 10
MCH	pg	11 – 17
MCHC	g/l	30 – 36
MCV	fl	40 – 60
Trombosyytit	10 E9/l	100 – 800
	Diffi %	Diffi, valkosolujen totaolimäärät 10 E9/l
Sauvatumaiset	0 – 2	0 – 0,12
Liuskatumaiset	15 – 45	0,6 - 4
Eosinofiilit	2 – 20	0 – 2,4
Basofiilit	0 – 2	0 – 0,2
Lymfosyytit	45 – 75	2,5 – 7,5
Monosyytit	2 - 7	0,025 – 0,84

Käsitteitä ja määritelmiä

atyyppinen	epätyypillinen, poikkeava, säännötön
azurofiilinen	atsuuriväriaineilla värjäytyvä
bakteeriendokardiitti	bakteerin aiheuttama sydämen sisäkalvon tulehdus
basofiilinen	emäksisillä väriaineilla värjäytyvä
basofilia	basofiilien runsaus veressä
DIC	disseminoitunut intravaskulaarinen koagulaatio
eosinofiilinen	happamilla väriaineilla värjäytyvä
eosinofilia	eosinofiilien runsaus veressä
erytropoieesi	punasolujen muodostus
essentiaalinen trombosytoosi	luuytimen häiriöstä johtuva trombosyyttien runsaus
fagosytoosi	solun syöminen
halo	vaalea kehä
hemolyyysi	punasolujen hajoaminen
hypersegmentaatio	ylajakautuminen
hypogranulaatio	granuloiden vähäisyys
hyposegmentaatio	aliliuskoittuminen
leukopenia	valkosolujen vähäisyys veressä
lymfooma	imukudoskasvain
lymfopenia	imusolujen niukkuus
lymfosytoosi	imusolujen runsaus tai liikarunsaus
metakromaattinen	kyky värjäytyä eri tavoin kuin ympäristönsä
monosytoosi	veren monosyyttien runsaus
monosytopenia	veren monosyyttien niukkuus
morfologinen artefakta	muodon ja rakenteen häiriötekijä
rubrisyytti	epäkypsä tumallinen punasolu
trombosytoosi	verihitaleiden runsaus veressä
trombosytopenia	trombosyyttien niukkuus
trombosyyttiaggregaatio	trombosyyttien yhteenliittyminen
trombosyyttisatellitismi	trombosyytit ympäröivät neutrofiilisiä granulosityyttejä
vakuolisaatio	solunsisäisten rakkuloiden lisääntyminen

Tekijänoikeuksien suojaamiseksi ohjekansiota ei julkaista. Ohjekansio on saatavissa toimeksiantajalta tai työn tekijöiltä.